

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



MÁSTER OFICIAL CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
PROYECTO FIN DE MÁSTER

**Odontología adhesiva y estudios de la interfase. Una
aproximación a la estandarización.**

Autor: Juan José Pérez-Higueras Sánchez-Escalonilla

Bajo la dirección de: José Carlos de la Macorra García

ÍNDICE

I. Resumen.....	2
II. Introducción	4
III. Incidencia e importancia de las variaciones del AA	9
Variaciones Inter-estudio.....	10
Variaciones intra-estudio.....	11
IV. Tratamiento de las variaciones del AA dentro de un estudio. Una aproximación a la estandarización.....	17
Controlar las diferencias del AA.....	18
Notificación de los resultados.....	21
Definir AA, y su rango.	21
Notificar los resultados para facilitar la interpretación clínica y la comparación entre estudios.	22
Aplicación del método propuesto. Simulación estadística.	22
V. Discusión	25
VI. Tablas	27
VII. Figuras.....	37
VIII. Bibliografía	46

I. RESUMEN

Recientemente se ha demostrado que las variaciones en el área adherida (Bonded Area – AA) de los especímenes utilizados en los ensayos de microtracción (microtensile test – t- μ T) producir alteraciones en los resultados. Este problema se hace patente al tener en cuenta que no existe, hasta el momento, un método que sea capaz de producir especímenes con AAs exáctamente iguales. Además aún no se ha descrito un método capaz de determinar de forma precisa esta influencia.

Se plantea un procedimiento capaz de controlar los efectos de las variaciones del AA en los resultados de microtracción. Además se presenta una proposición para la correcta notificación de los resultados, que facilite la comparación entre estudios. Este procedimiento tiene en cuenta la variabilidad específica de los especímenes provocada por las diferencias del material y los métodos de preparación de los mismos.

II. INTRODUCCIÓN

Desde que Buonocuore publicó el efecto del grabado ácido en los prismas de esmalte (1) en 1955 y Nakabayashi describió la formación de la capa híbrida en la utilización de los adhesivos dentinarios (2) la odontología adhesiva no sólo ha evolucionado en sí misma, sino que también ha ido extendiéndose a otros campos tales como la operatoria dental, la ortodoncia, la prostodoncia o la endodoncia.

El aumento en la demanda de técnicas adhesivas ha ido acompañado de un aumento en el estudio e investigaciones realizadas para predecir el comportamiento clínico de nuevos sistemas adhesivos. Para ello los investigadores han recurrido a la realización de estudios “in vitro”, siendo hoy en día los ensayos de tracción de la interfase adherida uno de los más usados (3). Sin embargo la correlación entre los resultados de este tipo de estudios y el comportamiento clínico ha demostrado ser AA (4, 5) o inexistente. Es decir, los resultados obtenidos “in vitro” e “in vivo” no tienen por qué ir de la mano.

En dichas pruebas el material que teóricamente se evalúa es un sistema complejo. Se ha descrito como la “interfase adhesiva” (3), y está formado por el adhesivo propiamente dicho (mezcla de monómeros varios, iniciadores del curado, inhibidores, estabilizantes, solventes y a veces relleno inorgánico) (6) y los adherentes, que serán por un lado el tejido duro dental, anisotrópico (7-10) y con componentes no-homogéneos, y por otro lado el material restaurador, estando este en estado rígido o plástico.

Los ensayos mecánicos de tracción cuantifican la resistencia de la interfase adhesiva cuando es sometida a fuerzas traccionales. La resistencia es una propiedad fundamental de los materiales y puede ser definida como la magnitud de estrés en el momento de fractura. La mecánica establece la siguiente fórmula de la resistencia: $\sigma_f = [2E \cdot \gamma / \pi \cdot c_0]^{1/2}$ (11), donde σ_f es el estrés en el momento de fractura, en tensión, **E** el módulo elástico, γ la energía superficial por unidad de área y c_0 el tamaño del defecto desencadenante de la fractura. Obvio es decir que las propiedades mecánicas de los materiales restauradores o de los tejidos dentales (**E** e γ) influyen de forma directa en los resultados. Pero otras condiciones, menos predecibles, como las técnicas clínicas usadas, la susceptibilidad del adhesivo a las condiciones del medio, el grosor de su capa, o el efecto de la contracción de polimerización en la interfase puede afectar a c_0 de múltiples formas, lo cual podría

explicar la dispersión de los resultados. Todas estas variables son capaces de producir en un mayor o menor grado la aparición de defectos en la interfase adhesiva.

Los valores de estrés obtenido en el momento de la fractura gracias a los ensayos de tracción han sido ampliamente cuestionados (3, 12) y se ha puesto en duda la capacidad de este sistema para determinar correctamente los valores reales de resistencia traccional. Esto se debe al papel de los defectos estructurales en la iniciación y propagación de la fractura.

Todos los materiales tienen, de forma inherente, defectos (13), cuyo tamaño y número depende del volumen del material, es decir, a mayor volumen del material, mayor cantidad de defectos habrá y mayor probabilidad de que el tamaño de esos defectos sea mayor. Además, debido a la diferencia en los módulos elásticos entre los adherentes y el adhesivo, se pueden formar nuevos cracks (14-16) cuando el sistema se somete a fuerzas traccionales y la capa adhesiva se deforma (según la razón de Poisson), aumentando el estrés y sus efectos colaterales. Este fenómeno se ha predicho mediante análisis de elementos finitos (Finite Element Analysis - FEA), al menos en especímenes con forma de reloj de arena (15, 17-19). En cualquier caso, los nuevos cracks o los defectos propios de los materiales son capaces de concentrar altos niveles de estrés en sus extremos (20), iniciando de este modo la fractura (21, 22) ya que la resistencia de un material, como se ha podido observar en la fórmula matemática que describe la resistencia, es sensible a este tipo de defectos. La prolongación del crack podría ocurrir si la energía elástica almacenada (energía mecánica) fuera capaz, durante la tracción, de exceder a la energía requerida para formar nuevas superficies (energía superficial) (23). Así, en los extremos de los cracks o los defectos, los niveles de estrés serán substancialmente mayores que el valor que se obtiene dividiendo la fuerza total requerida en la fractura entre el AA, denominada **resistencia traccional nominal**, el estrés real que causa la fractura –originado a partir de los defectos o los cracks- es mayor que los valores de resistencia traccional nominal.

En un intento de reducir la aparición de defectos y su importancia, se presentó a mediados de los noventa un nuevo sistema para determinar la resistencia adhesiva denominado “test de microtracción” (microtensile test - t- μ T). Utilizado inicialmente por Okuno en la industria del vidrio (24), (citado por Armstrong y cols. (25)), el t- μ T fue adaptado a la odontología por Sano y cols. (26, 27) para controlar la dispersión en los resultados de los ensayos experimentales de resistencia adhesiva a dentina, el desacuerdo en los datos obtenidos entre diferentes estudios, el problema de la

demarcación del área de adhesión en sustratos especiales (carioso, cervical, dentina esclerótica) o la necesidad de evaluar si existen diferencias en los valores obtenidos según sea la zona de la dentina donde nos queramos adherir. Las ventajas e inconvenientes de este método ya han sido descritas previamente en extenso (25, 28-32).

Sin embargo, el problema de la dispersión de los resultados entre protocolos (3, 12, 15, 33-35) y entre evaluaciones del mismo adhesivo (28, 34) permanece aún sin resolver. Algunas causas que están directamente relacionadas con esta dispersión han sido descritas anteriormente. Factores como el tamaño del AA, su forma geométrica (15, 17, 36-39) o de los especímenes en sí (18, 36, 40, 41), podrían influir en la distribución del estrés durante la realización de la prueba (42). Pero, hasta el momento, el efecto de la variación del tamaño del AA ha sido poco tenido en cuenta (28, 36, 43). Algunos autores indican la existencia de diferencias entre los resultados en los estudios de microtracción y los estudios de tracción convencionales (también denominados actualmente ensayos de macrotracción) (34).

En un primer momento (26), se describió que la relación entre el logaritmo del AA y la resistencia adhesiva a la micro-tracción (microtensile bond Strength – μ TBS) se ajustaba a una relación lineal. Esta es la razón por la que el valor de μ TBS para diversos materiales en este tipo de estudios no podía ser determinado. Además se observó que en estudios que usaban áreas comprendidas entre 0.5 y 11.65 mm² ocurría que, según las propias palabras de los autores “*áreas menores se asociaban con mayor resistencia adhesiva, mientras que áreas mayores mostraban valores de resistencia traccional menor*” (26). Este fue el primer aviso del problema a tratar en el presente documento: cuando el AA varía entre estudios, la comparación e interpretación de éstos complicada.

Esta relación ha sido ampliamente descrita en otros trabajos como una relación lineal (44), exponencial (45) o inversa (46), según fuera la fórmula matemática que se ajustara al comportamiento de la matriz de datos. Esta variación se debe principalmente a diferencias inter-estudio en los rangos utilizados de AA y a los métodos propios de cada grupo de estudio.

Esta influencia del AA sobre μ TBS ha sido mencionada previamente en algún artículo de revisión (29), donde el autor afirma que: “*debido al gran efecto que produce el AA en la resistencia adhesiva resina-dentina, es importante tener la certeza de que no existen diferencias estadísticamente significativas en los AAs de los diferentes grupos experimentales. Si existen*

diferencias, deben ser ajustadas las covarianzas usando el método de los mínimos cuadrados, el cual ajustará las diferencias de forma previa a comparar los resultados. Se prefiere la realización de especímenes de 0,8 a 1,0 mm²".

Las variaciones intra o interestudio del tamaño del AA de los especímenes influyen en la uniformidad de los resultados de μ TBS. Actualmente existe una necesidad de métodos para estandarizar el AA (28, 34) ya que es imposible comparar los resultados de tracción o microtracción que usen diferente AA.

Este artículo pretende presentar un método para controlar los efectos del tamaño del área adherida en los resultados de microtracción que no requiera la manipulación de los especímenes o equipamiento excesivamente caro. Este método ya ha sido publicado de forma parcial previamente (47).

III. IMPORTANCIA E INCIDENCIA DE LAS VARIACIONES DE AA

Variaciones Inter-estudio

Debido a las ventajas que aportan los t- μ T, el número de ensayos de este tipo se ha multiplicado en los últimos años. Si realizamos una búsqueda en la base de datos PubMed utilizando los términos “*micro-tensile*” o “*microtensile*” o “ *μ TBS*” o “*microTBS*” o “*uTBS*” y los clasificamos por año de publicación, se observa que el número de artículos publicados desde 1994 a 2010 ha ido creciendo considerablemente desde su aparición en el ámbito odontológico. Los resultados se muestran en la Figura 1, y reflejan lo extendido que está este tipo de estudio, sea cual sea el protocolo o el objetivo a investigar.

Para evaluar las fluctuaciones inter-estudio del AA, se han seleccionado, del total de los publicados en 2009 y 2010, y de forma randomizada, 71 estudios mediante una tabla de números aleatorios. Se tiene en cuenta el AA utilizada indicada en el apartado de “material y métodos”. Los resultados de la búsqueda están descritos en la Figura 2. Se puede observar que la mayoría de los artículos (veintiocho) indican que se han usado áreas medias de 1mm^2 , sin embargo existen otros estudios que usaron un tamaño de AA diferente, por ejemplo 0.8mm^2 (diez artículos), 0.81mm^2 (nueve artículos) o 0.9mm^2 (seis artículos). Un artículo usó áreas de 0.09mm^2 (48). La relación completa junto con los valores del AA y la referencia bibliográfica se muestran en la

Cabe reseñar que en la mayoría de los casos el AA indicada por los autores sólo se hace en concepto de “área media utilizada” (representada como puntos, en la Figura 2) y hay que tener en cuenta que el área real de los especímenes utilizados oscila, más o menos, alrededor de ese valor. Pocos artículos citan el rango de área usado (mostrado como líneas verticales en la Figura 2).

Dado que las AA menores tienden a tener un valor nominal mayor en los resultados de μ TBS, se hace manifiesto que esta heterogeneidad en los valores de AA utilizados, como se muestra en la Figura 2, producirá un cúmulo de datos difícilmente interpretables. Esto apoya la necesidad de algún método que estandarice el AA previamente mencionado (28, 34). Cabe pensar que estudios que usen un AA menor obtendrán valores de resistencia mayores que los que utilicen un AA mayor.

Para evaluar la existencia o no de este efecto y cuantificar la influencia de la variación del AA en los resultados de microtracción de determinados materiales, hemos seleccionado estudios publicados de Clearfil SE Bond realizados en diferentes laboratorios y publicados en revistas indexadas en el Índice Medicus (PubMed/MedLine). Este sistema adhesivo se eligió ya que fue comercializado en la década de los noventa y desde entonces ha sido ampliamente testado, asegurándonos así al seleccionarlo que existiera gran número de estudios publicados. Para homogeneizar los resultados se han establecido criterios de inclusión descritos en la Tabla 2. Todos los estudios encontrados que cumplieran los criterios de inclusión fueron estudiados. La Figura 3 muestra la relación μ TBS-AA para este material. Un total de treinta trabajos correspondientes a los años 2007, 2008 y 2009 fueron analizados, incluyendo un total de sesenta y ocho grupos (ya que muchos de los artículos poseían varios grupos experimentales que cumplían los criterios y que por lo tanto se incluyen en la gráfica) (cada x representa un grupo incluido, en la Figura 3). El rango estudiado fue de 0,5 a 1,1 mm². En la gráfica aparece también la línea de regresión correspondiente a la relación de μ TBS y AA (μ TBS = 34.9 – 31.9 · [ln(AA)], p = 0.000002, r² = 0.29, SPSS 19.0).

Esta gráfica recalca por un lado la relación AA- μ TBS en el sentido que ya se ha expuesto, y por otro lado la dificultad para interpretar este tipo de estudios. Así, según esta gráfica, para el mismo tipo de adhesivo y en unas condiciones similares, si el área de los especímenes utilizados fuera, por ejemplo, de 0.6 mm², los resultados tendrían un valor medio de 51.2 MPa, mientras que si dicho área fuera de, por ejemplo, 1.0 mm², obtendríamos valores medios de 34.9 MPa. Estaríamos hablando de un 31.8% de diferencia en la resistencia traccional nominal, sólo provocada por diferencias en el protocolo de preparación de los especímenes. La Tabla 3 incluye las referencias de estos estudios.

Respecto a las variaciones inter-estudio otro trabajo (28) muestra en su Tabla 1 datos de varios trabajos realizados por diferentes laboratorios en los cuales se evaluaba el μ TBS de varios materiales usando especímenes con diferentes AA. La Figura 4 muestra una gráfica que relaciona μ TBS con AA. La ecuación de regresión exponencial que muestra el comportamiento grupal es μ TBS = 23.26*AA^{-0.51} (p < 0.00001, r² = 0.67).

Variaciones intra-estudio

¿Cuánto afectan las variaciones del AA a los resultados de μ TBS dentro de un mismo estudio?, ¿Cuánto se hacen notar estas variaciones dentro de un estudio individual?. Pocos trabajos, si existe alguno, analizan adecuadamente este problema. En este caso se han seleccionado varios para ilustrar cómo se aborda este asunto y cómo se ponen de manifiesto estas variaciones.

El primero de ellos es un estudio, ya mencionado, sobre el efecto del tamaño del AA en los resultados de μ TBS en dentina (44). En él, los especímenes se prepararon laboriosamente con sección rectangular o circular. Una vez preparados, se dividieron en 3 grupos según su AA: 1.1, 1.5 o 3.1mm². En este punto, asumiendo que el AA de los especímenes en cada grupo es exactamente el mencionado, la influencia del tamaño del AA y de su geometría sobre el μ TBS se analizó de dos maneras. Mediante ANOVA y la prueba de la diferencia mínima significativa (LSD) para comparaciones múltiples. Aunque este sistema permite la comparación entre resultados de μ TBS respecto a diferentes AAs, presenta el inconveniente de que requiere un laborioso trabajo para producir grupos con especímenes exactamente iguales, y en cualquier caso existe inexactitud. Además, aunque la información que se presenta de los diferentes grupos es relevante, al vincularse esos resultados a un área determinada, la notificación de los resultados además de ser poco práctica no llega a describir inequívocamente el comportamiento del material. Por lo tanto la información “in vitro” que se puede obtener es poco práctica y muy difícil de entender a nivel clínico.

Otro estudio (45), reporta dos experimentos separados. En el primero se afirma que, mediante adelgazamiento del espécimen, el AA se mantiene constante a 1 mm². No se incluye información sobre cómo se logra mantener ese AA constante o cual es la precisión, aunque en el apartado de resultados los autores afirman que no existen variaciones significativamente estadísticas entre grupos ($p = 0.2112$). En cualquier caso, para conseguir esto se necesita un laborioso trabajo de laboratorio que no garantiza totalmente la exactitud en los resultados. Las comparaciones entre grupos (entre materiales y/o localizaciones) se realizan por la técnica de mínimos cuadrados. El significado de los mínimos cuadrados es el valor esperado del grupo o subgrupo que implica que se espera un diseño equilibrado respecto a la variable del grupo con todas las covariantes a su valor medio.

En el segundo experimento de este estudio, se introducen variaciones intencionales del AA de un 40%; se forman 6 grupos. Los tamaños varían entre 0.5 ± 0.1 , 1.0 ± 0.2 , 1.5 ± 0.2 , 2.0 ± 0.2 , 2.5 ± 0.2 y 3.0 ± 0.3 mm². Todos los materiales testados mostraron de forma significativa ($p <$

0.005, en todos los casos) que existía una relación inversa entre los resultados de μ TBS y el AA.

Una afirmación destacable de los autores es que, debido a esa dependencia de resultados de μ TBS con respecto a AA, es necesario que el investigador indique en el trabajo el tamaño exacto del AA si este es menor a 3 mm². Debido a las dificultades técnicas para preparar especímenes pequeños y la amplia variación obtenida cuando se hace, se recomienda que el área adherida esté en torno a 1.0 mm². Siendo esto un requerimiento atractivo, las dificultades técnicas permanecen sin resolver, ya que ningún protocolo es capaz de producir especímenes, , con una AA exacta a 1 mm², ni con manipulaciones importantes.

Otro trabajo, que estudia el efecto de la contaminación por saliva y las soluciones desinfectantes en los resultados de μ TBS a la dentina de adhesivos de autograbado (Adper Prompt L-Pop, Adper Easy Bond and Clearfil SE Bond) (43), refiere una relación lineal negativa entre μ TBS y AA ($r = -0.8094$, $p < 0.0001$). La relación fue analizada usando correlación por pares, lo que impide comprobar de qué tipo de relación se trata (logarítmica, inversa, etc.), al ser sólo una medida de asociación. Sin embargo, si prestamos atención a la Figura 3 del citado artículo (Figura 5, con permiso) parece que se asemeja a una relación logarítmica. Setenta y cinco puntos están distribuidos en el gráfico, pertenecientes a 15 grupos ($n=5$ por grupo) dependiendo del adhesivo usado y el tratamiento de superficie o la solución desinfectante. Así, el método utilizado para comparar los resultados de μ TBS parece erróneo, pues han sido estimados para un rango de AA comprendido entre 0.7 y 1.1 mm². Pequeñas variaciones en el AA parecen producir desviaciones en los valores de μ TBS cercanas al 30%.

El Leuven BIOMAT Research Cluster (LBRC) utiliza un sistema semi-automático para la fabricación de micro-especímenes, usando un formador de especímenes que transforma los especímenes de sección cuadrangular en especímenes con sección circular (4). Este método añade coste suplementario al equipamiento necesario para la preparación de los especímenes, aunque cabe reseñar que reduce notablemente las variaciones en AA. En cualquier caso, la eliminación de las variaciones no está totalmente garantizada, como puede observarse en los trabajos del mismo grupo (49-51). Además, se requiere un refinado de los especímenes tras seccionarlos, un proceso que puede exacerbar la influencia de defectos microestructurales inherentes (11) y depende muy notablemente de las habilidades del operador, introduciendo así una curva de aprendizaje y un factor de sensibilidad a la técnica (4).

Datos de varios estudios, amablemente aportados por este grupo para el presente trabajo, con especímenes preparados del mismo modo y por los mismos operadores (52, 53) están representados en una gráfica que muestra la relación μ TBS-AA y la fórmula logarítmica de la regresión ($r^2 = 0.47$, $p < 0.0001$) (Figura 6). La comparación en igualdad de condiciones entre los especímenes de la derecha (AA mayores) y de la izquierda (AA menores) obviamente es imposible. El área media utilizada es 1.07 mm^2 y la variación es 0.51. Según esta gráfica, los especímenes testados cuyo AA sea 1.2 mm^2 tendrán valores medios de μ TBS de 30 MPa, mientras que especímenes cuyo AA sea 1 mm^2 , tendrán valores medios de 60 MPa.

Por otro lado se nos plantea una situación que no se había planteado hasta este momento pero que ocurre frecuentemente; en un estudio donde se quieran comparar valores de resistencia traccional de dos materiales de los cuales de uno de ellos parece razonable esperar unos valores de μ TBS mayores que del otro, es lógico tender a fabricar los especímenes del material que parece ser más resistente de un tamaño menor a los de menor resistencia para evitar así fallos pre-test (pre-test failures - PTF).

Para ilustrar esta afirmación utilizaremos un ensayo de nuestro laboratorio. Para estudiar la resistencia adhesiva de varios adhesivos se usa un método para compararla con la resistencia microcohesiva de la dentina adyacente (microtensile cohesive strenght - μ TCS). El protocolo ha sido ya previamente descrito (47), y permite producir especímenes para testar dentina o la interfase dentina-adhesivo-composite. Se evaluaron 9 adhesivos diferentes y se compararon la μ TBS con la μ TCS de la dentina inmediatamente adyacente. El protocolo consiste en lo siguiente (Figura 7):

De sesenta y seis terceros molares humanos sin caries (A), se eliminaron las raíces a nivel de la entrada del conducto radicular y se expuso una amplia superficie de dentina coronal (B) con una sierra de diamante refrigerada con agua (3031 CP/N Exakt; Norderstedt, Germany).

Con una fresa de diamante de 1.4 mm de diámetro en la punta (837KRSU, Brasseler), se preparan dos surcos paralelos (de aproximadamente de 2 mm de altura y 2 mm de anchura) en la dentina oclusal (C), bajo refrigeración constante con agua. La separación entre ellos fue 2 mm.

Se reconstruyó (Filtek Z-250), usando alguno de los siguientes adhesivos, según instrucciones del fabricante:

- Adper Prompt L-Pop
- Xeno V
- Adhese One
- Adper ScotchBond SE
- Clearfil SE Bond
- Optibond All-in-one
- Clearfil DC Bond
- Clearfil S3 Bond

Tras 24 horas en una cámara de 100% humedad, los molares reconstruidos fueron seccionados de forma paralela a los surcos (E) y perpendicular a este plano, para obtener barras rectangulares formadas por dentina y composite.

Las barras fueron adelgazadas cuidadosamente, a mano, con una fresa redonda, para inducir la fractura al mismo nivel (flechas rojas, en F), en todas las barras de cada diente.

Las barras se colocaron en un dispositivo de microtracción rígido basado en un diseño la Universidad de Amsterdam y mejorado en nuestro Departamento. La máquina empleada para ejercer la tracción fue una Hounsfield 500N (Croydon, Inglaterra).

Se registró la μ TBS para especímenes procedentes de los surcos y la μ TCS se registró para los especímenes procedentes de los espacios entre surcos.

La relación μ TBS/ μ TCS con el AA se muestra en la Figura 8, y sigue una distribución exponencial: $T = 21.16 \cdot AA^{-1.09}$ ($r^2 = 0.47$, $p < 0.00001$), donde T es μ TBS o μ TCS (en MPa), y AA es la sección de los especímenes (en mm^2). Se puede observar que μ TCS se evaluó usando muestras con AAs muy diferentes de las utilizadas para evaluar la μ TBS. Los especímenes fueron adelgazados manualmente para inducir la fractura al nivel deseado (flechas rojas, F, en Figura 8). Todas las AAs fueron adelgazadas al máximo posible, ya que esto disminuye el riesgo de desinserción del dispositivo de microtracción y la fuerza que hay que soportar es mínima. Cabe destacar que aquellos especímenes procedentes de los surcos (para evaluar μ TBS) sufrieron menores reducciones en el AA, ya que parece que tienden a fracturarse con mayor frecuencia que

las utilizadas para evaluar la μ TCS de la dentina. Además, algunos materiales adhesivos mostraron elevada tendencia a separarse durante la manipulación (PTF), haciendo aconsejable preparar estos especímenes con AAs superiores. Como resultado de todo ello se obtuvo una distribución de AA muy amplia, (Figura 9), que, tal y como se ha razonado anteriormente, hace prácticamente imposible la comparación de resultados.

En este ejemplo no se intentaba que el AA variara entre grupo; sin embargo son verosímiles las situaciones donde esto se tenga que hacer de forma intencionada. Una situación donde los investigadores necesitan preparar los especímenes con diferentes tamaños puede ser cuando se necesita preparar materiales con diferente fragilidad, como es el caso de esmalte o la cerámica. En esta situación es aconsejable adaptar el área de los especímenes al mínimo en el cual el material más frágil puede resistir, para reducir la incidencia de PTF, sin aumentar el número de fracturas cohesivas, que sería lo que implicaría el aumento indiscriminado del AA.

IV. VARIACIONES DEL AA DENTRO DE UN ESTUDIO. UNA APROXIMACIÓN A LA ESTANDARIZACIÓN

Como ya se ha comentado anteriormente, los valores obtenidos de los $t-\mu T$ no son los valores reales de μTBS (3). El estrés real soportado es el originado en los extremos de los cracks o los defectos. Así, en la interfase adhesiva los valores de μTBS reales son significativamente mayores que los valores de resistencia traccional nominal. Los resultados del test muestran algo similar a la microrresistencia del adhesivo a ser despegado cuando se combinan materiales y tejidos. Pero, en cualquier caso, sea cual sea la información extraída de este tipo de test, se ha demostrado que la correlación de los resultados con el comportamiento clínico es baja (4, 5). Esta falta de correlación puede deberse, aunque sólo sea de una forma parcial, a las variaciones de los resultados tal y como aquí se indica. Todavía está por determinar si en un futuro una mayor consistencia en los resultados podría mejorar esta correlación con los resultados clínicos.

A pesar de esta falta de correlación, este tipo de test se ha utilizado, y se sigue utilizando, para predecir el comportamiento clínico de los sistemas adhesivos, para realizar un seguimiento de la evolución de la interfase y para evaluar el comportamiento de los adhesivos cuando se someten a diferentes situaciones. Además también se ha usado este test para determinar propiedades físicas de biomateriales antes de su uso en boca. A estos efectos, parece útil estandarizar los tests con objeto de homogeneizar resultados. Esta estandarización podría venir dada a través de dos aspectos: controlar las diferencias de AA y establecer una correcta notificación de los resultados.

Controlar las diferencias del AA.

Cuando los resultados de la evaluación de μTBS (y μTCS , como en el ejemplo anterior) de cualquier material, se comparan, se establece una hipótesis inicial. Normalmente, esta hipótesis es que la diferencia en los resultados no es estadísticamente significativa. Es lo que se denomina hipótesis nula. Ahora, ¿de dónde provienen las diferencias que se esperan? Hay, al menos dos fuentes.

La primera, específica, es el resultado de la suma de la variabilidad intrínseca de cada espécimen y la de la debida al material. Estas diferencias son las que se pretenden evaluar en las pruebas. Pero hay una segunda fuente de variabilidad, de tipo general: la debida a las variaciones

del AA. Por ello, para evaluar la variabilidad específica, se debe controlar la confusión debida a la variabilidad general.

Si los especímenes fueran homogéneos y no existieran diferencias en los materiales, como se ha supuesto en la hipótesis nula, los resultados solo variarían debido a las diferencias de AA. Por lo tanto, la representación de los resultados de μ TBS en relación a AA mostraría todos y cada uno de los resultados individuales sobre una línea de regresión que ilustraría esta relación. Pero esto está lejos de ocurrir ya que normalmente los resultados están dispuestos alrededor de la línea de regresión (Figura 6, Figura 9), siguiendo la tendencia pero sin tener el valor exacto esperado. Esto es debido a que los materiales son diferentes en cada grupo de especímenes, y a que existe una variabilidad inherente a cada espécimen. Estas diferencias no están causadas por la variabilidad del AA, y se representan como la distancia vertical desde cada valor individual hasta la línea de regresión (es decir, los residuos) que es lo que pretendemos comparar.

ANCOVA (analysis of covariance) es un procedimiento estadístico que permite eliminar la co-variabilidad con un factor que influye constantemente, o covarianza (AA, en nuestro caso), en la variable dependiente (μ TBS/ μ TCS, en nuestro caso), y se ha propuesto para el control de este tipo de fluctuaciones (29, 45). Sin embargo, este método necesita dos condiciones (54, 55), para poder aplicar este método, que *a priori* no pueden cumplirse.

Primero, y principal, la relación entre la variable y la covariable debe ser la misma para todo el espectro de la variable independiente, o en otras palabras, que la regresión de la variable en la covariable debe ser lineal. Aunque esta relación ha sido alguna vez descrita como tal (44), otros autores la describen como logarítmica (26), como exponencial (45) o como inversa (46). Por ejemplo, los datos obtenidos de LBRC (52, 53) muestran esta relación como logarítmica, mientras que en el ejemplo obtenido de nuestro laboratorio es exponencial. Ciertamente es que todos estos tipos de relación mencionados no son muy diferentes entre sí, pero la mayoría de ellos son no-lineales. Además esta relación varía entre grupos de trabajo, probablemente porque cada laboratorio emplea diferentes técnicas, con diferentes materiales, usa diferentes rangos de AA y se comprueba la resistencia adhesiva en diferentes situaciones.

La segunda condición es que los residuos sigan una distribución normal con una media igual a cero y una variancia común. El que exista una media igual a cero es inherente al cálculo de los residuos con el método de mínimos cuadrados, pero cuando se describieron los t- μ T se describió

una variancia irregular (26), pues la variabilidad de los resultados aumenta cuando el AA se sitúa en valores comprendidos entre 0.25 y 0.75 mm², con respecto a cuándo AA se situaba en valores entre 1 y 3.5 mm². Esto se corrobora en otros trabajos (45), usando datos de LBRC (Figura 10) o los del ejemplo citado de nuestro laboratorio (Figura 11). En ambas imágenes, la dispersión de los residuos aumenta cuando AA se acerca al mínimo. Este aumento de la variabilidad en los resultados está, parece ser, relacionado con la regresión hacia los valores mínimos de AA.

Dado que esta variabilidad es protocolo-específica y no lineal, nuestra proposición es controlarla con el método que se describe a continuación, por pasos:

1. Establecer la mejor línea de regresión para la relación μ TBS-AA para el conjunto de datos existentes, en cada experimento específico. Esta línea representará la hipótesis nula, que como recordamos implica que si todos los especímenes produjeran los mismos resultados, en las condiciones experimentales, todos los resultados estarían sobre la línea de regresión, y la variabilidad estaría determinada solo por las diferencias en AA.

La línea de regresión tiene que ser calculada para cada estudio, para todos los datos existentes. Por esta razón decimos que esta fórmula obtenida es estudio-específica y no puede ser extrapolada a otros estudios.

2. Como, probablemente, los especímenes no tendrán el mismo comportamiento, debemos obtener la variabilidad específica substrayendo la variabilidad general del total. Esta substracción deja como resultados los residuos, que son la diferencia entre cada resultado individual y la línea de regresión. Gráficamente se representa como la distancia vertical entre la representación gráfica individual y la línea de regresión.
3. De acuerdo al diseño experimental, se pueden comparar las diferencias entre las variabilidades específicas, entre grupos. Este paso consistiría en la comparación de los valores de los residuos, que representan la variabilidad específica.

Sin embargo, este análisis de los residuos conlleva dos problemas: en primer lugar, la dificultad en la interpretación clínica de los residuos, pues éstos se sitúan por encima o debajo de la línea de regresión (su media es cero). Consecuentemente, las medias de los grupos que tengan peor comportamiento serán probablemente negativas. Esto traduciría un

efecto repulsivo en vez de adhesivo, lo que haría que fuera difícil de entender, al parecer una μ TBS con valores negativos, aumentando así los problemas en la notificación.

En segundo lugar, la magnitud total de los residuos es menor que la de la resistencia adhesiva real de cada espécimen, ya que se han calculado restando del total el valor de la regresión para ese punto (variación general, debida al AA) del resultado actual (variación total). La Figura 12 muestra un gráfico de cajas de los residuos de μ TBS para algunos adhesivos y de μ TCS de dentina para especímenes con AA entre 0.8 y 1 mm² Tabla 5. Los residuos tienen, de media, 24.5 MPa, el valor aproximado para el valor de regresión para AA= 0.9 mm², consistentemente menor que el valor correspondiente de μ TBS/ μ TCS. El coeficiente de variación (CV, el ratio para la desviación estándar respecto a la media, una medida del “ruido” de los valores estudiados) aumenta a 3.7 veces para el grupo dentina. Este aumento de las desviaciones estándar respecto a la media implica que es más difícil obtener significación estadística utilizando este método.

Notificación de los resultados

Respecto a la notificación deben afrontarse dos problemas: la falta de una definición del AA y la dificultad para interpretar clínicamente los residuos.

Definir AA, y su rango.

Para contextualizar los resultados es necesario que el investigador indique cual ha sido el AA utilizado, a la vista de la influencia de esta en los resultados finales. El dato notificado debe ser una buena aproximación al AA media utilizada en el estudio, para que sea reproducible en otros laboratorios. Generalmente, para estudios de microtracción, se ha utilizado de forma estándar rangos comprendidos entre 0.8 y 1 mm² (29) (Tabla 1). Sin embargo, en vista de lo poco práctico que es la realización de especímenes con áreas iguales, es lógico ampliar este rango y transformar la idea de notificar el área media a notificar el rango utilizado. Además, los t- μ T se emplean en situaciones diferentes con diferentes requerimientos para los especímenes algo que puede hacer deseable el uso de diferentes áreas adheridas en el mismo experimento.

Para ello, parece razonable ampliar el rango medio de 0.8 hasta 1.2 mm² lo cual parece más apropiado, siempre considerando que los resultados de μ TBS pueden variar en los extremos de

dicho rango y sería necesario un ajuste del AA, con el método que se ha mencionado anteriormente, ya que las variaciones reportadas están entre 3.9 y 29.6% (26, 43-45, 47), para este rango de AA. Cuando se notifican los resultados la media usada en el estudio, y su rango, deben estar claramente establecidos. Para la estandarización, lo ideal sería que la media del AA esté lo más cerca posible de 1 mm^2 .

Notificar los resultados para facilitar la interpretación clínica y la comparación entre estudios.

Si el rango de área utilizado es un intervalo que comprende 1 mm^2 , los resultados de μTBS podrían estimarse sumando el valor del residuo para cada caso al valor de la recta de regresión para un AA igual a 1 mm^2 . Así los resultados serían clínicamente comprensibles, al notificarse el dato μTBS en vez de los residuos, y los valores obtenidos en diferentes estudios podrían compararse, al haberse estimado todos para el mismo AA.

La solución propuesta permite estandarizar los resultados, controlando el efecto del área adherida en ellos. Puede ocurrir que los resultados obtenidos, y por tanto las conclusiones, al tratar los datos de forma convencional puedan alterarse teniendo en cuenta la influencia del factor AA. Así, como en el ejemplo expuesto anteriormente, los valores de resistencia traccional mostrados se alteran, alterándose también los resultados de los test paramétricos que indican si existe o no diferencias significativas entre grupos.

Aplicación del método propuesto. Simulación estadística.

Como ejemplo de la solución propuesta, procederemos a aplicar el método en un caso simulado.

En un test de microtracción se testaron 3 sistemas adhesivos dentinarios diferentes (A, B y C). Para ello se confeccionaron 75 especímenes (25 en cada grupo). Cada espécimen se colocó en un dispositivo rígido de microtracción para obtener su valor de resistencia traccional nominal (μTBS). Los resultados obtenidos de cada uno de los especímenes se especifican en la Tabla 6.

La Figuras 13 y 14 muestran la disposición de los valores obtenidos para cada espécimen en una gráfica que relaciona el resultado de μ TBS con el valor del AA. El valor de los estadísticos descriptivos se refleja en la Tabla 7.

El tratamiento de los datos de forma convencional consistiría en realización de pruebas de normalidad (Tabla 8), y si se obtienen resultados de distribución normal, como sería el caso, de la aplicación del test paramétrico de ANOVA (Tabla 9) y post-hoc (teniendo en cuenta la homogeneidad o no de las varianzas de los grupos - Tabla 10). En este caso se ha elegido el test post-hoc de Tamhane (Tabla 11), dado que las varianzas no son homogéneas. El resultado de ANOVA indica que existen diferencias significativas entre grupos ($p=0.020$).

La notificación de la resistencia traccional obtenida por cada uno de los grupos, se haría en concepto de resistencia media traccional, sin tener en cuenta el AA utilizada. Las resistencias medias son: $68,2\pm31,3$ para el grupo A, $59,1\pm18,5$ para el grupo B y $48,5\pm20,6$ para el grupo C.

Resumiendo, con el tratamiento de datos convencional llegaríamos a la conclusión de que el grupo A produjo datos de resistencia traccional mayores que el grupo B y éste a su vez que el grupo C.

Con el método propuesto en este trabajo el tratamiento de los datos se haría de la siguiente manera:

1. Establecimiento de la regresión: $TBS = 54.562 - 84.623 \cdot \ln(AA)$. La Figura 15 superpone la línea de regresión a los valores individuales obtenidos de los especímenes.
2. Obtención de los residuos, es decir la variabilidad individual de cada espécimen que no puede ser atribuida a la variación de AA. El valor de los residuos viene mostrado en la Tabla 7. Los residuos obtenidos, por grupos son: $-3,1\pm15,3$ para el grupo A, $1,1\pm17,1$ para el grupo B y $2\pm15,1$ para el grupo C. Recordemos que la existencia de residuos con valor negativo sólo implica que para ese grupo, los valores obtenidos están, en su mayoría por debajo de la línea de regresión.
3. Comparación estadística entre grupos usando los valores de residuos. Se realiza ANOVA, sin obtener diferencias significativas entre grupos.

En este punto sólo cabe notificar los valores obtenidos. Recordamos que el valor que va a mostrar el estudio respecto a resistencia traccional nominal se obtienen sumando el valor de la regresión para $AA = 1 \text{ mm}^2$ al valor de los residuos obtenidos para cada grupo. De esta manera, independientemente del área media obtenida en cada uno de los grupos, como se asume que todos ellos se realizaron con $AA = 1 \text{ mm}^2$, podrá realizarse una comparación directa entre resultados de otro estudio que aplique también este protocolo de estandarización de los datos. Los valores para cada uno de los grupos a $AA = 1 \text{ mm}^2$ son: 51,46 MPA $\pm 15,3$ para el Grupo A, 55,66 MPA $\pm 17,1$ para el Grupo B y 56,56 Mpa $\pm 15,1$ para el Grupo C.

La Figura 16 representa un gráfico de cajas donde están reflejados los resultados, por grupos, de TBS, residuos y el valor de μTBS para $AA = 1 \text{ mm}^2$.

V. DISCUSIÓN

Aunque las variaciones del AA entre estudios son una covariable conocida en los estudios de μ TBS, aún no existe un método de consenso para determinar y controlar este efecto. Se ha demostrado claramente que no existe un método de laboratorio capaz de producir especímenes con exactamente el mismo AA. Aquí se presenta un procedimiento que permite controlar este efecto en los resultados. Además se presenta una propuesta de notificación que permite que los resultados de diferentes estudios sean comparables entre sí. Este método está basado en la identificación de la variabilidad específica –residuos–, debida a las diferencias en el comportamiento de los materiales ya a la variabilidad biológica intrínseca de los especímenes.

No está claro por qué la influencia del AA es tan elevada cuando los especímenes tienen secciones pequeñas. Así la relación μ TBS - AA (26, 44-46) muestra un comportamiento asintótico cuando el valor del AA tiene a cero, como se muestra en la Figura 9. El que el efecto del ratio de Poisson en la capa adhesiva, aumentando el estrés en sus superficies externas (3) sea un factor de escala, o el que el grosor de la capa adhesiva sea un factor determinante (19, 56-60) todavía tienen que ser investigados.

Además, es posible que los defectos que inician la fractura (ya sean inherentes al material o aparezcan durante la manipulación) esté proporcionalmente aumentados en los especímenes pequeños, aumentando la variabilidad en los resultados cuando los AAs disminuyen, como ya se ha mencionado previamente (29), y se muestra en otros trabajos (43) y en las Figura 10, Figura 11 y Tabla 5. Porqué este cambio que se produce en la precisión de las medidas (61) está relacionado con la escala, es algo que también debe ser estudiado.

VI. TABLAS

Tabla 1. Área media utilizada en 71 trabajos seleccionados de forma aleatoria y publicados en 2009 o 2010.

Año	Autor(es)	Área Media Utilizada
2009	Aksornmuang et al. (62)	0,36
	Arisu et al. (63)	1,00
	Bagis et al. (64)	1,10
	Bakri et al. (65)	1,00
	Breschi et al. (66)	0,90
	Cadenaro et al.(67)	0,81
	Carvalho et al.(68)	0,81
	Cavalli et al.(69)	0,80
	Chaves et al. (70)	1,00
	Chung et al. (71)	0,81
	Do Amaral et al. (72)	0,80
	Duarte et al.(73)	0,80
	Duarte et al.(74)	0,80
	Ergüç et al. (75)	1,00
	Erhardt et al. (76)	1,00
	Ferreira et al. (77)	1,00
	García et al.(78)	0,70
	Giachetti et al. (79)	0,75
	Goncalves et al. (80)	1,00
	Hiraisi et al. (81)	0,81
	Jung et al. (82)	0,80
	Li et al.(83)	0,64
	Loguercio et al. (84)	1,00
	Loguercio et al.(85)	0,80
	Manso et al. (86)	0,90
	Marques et al. (87)	0,80
	Marquezan et al. (88)	1,00
	Moura et al. (89)	0,80
	Orellana et al. (90)	1,00
	Osorio et al. (91)	1,00
	Ounsi et al.(92)	1,00
	Pereira et al. (93)	1,00
	Purk et al. (94)	0,50
	Reis et al.(95)	0,80
	Rodrigues et al. (96)	0,50
	Shinohara et al.(97)	0,80
	Van Landuyt et al. (51)	1,21
	Viotti et al. (98)	1,00
	Zhou et al. (99)	0,60
2010	Abdalla et al. (100)	1,00
	Almeida et al. (101)	1,00

Banerjee et al. (102)	0,81
Belli et al. (103)	0,50
Breschi et al. (104)	0,90
Breschi et al. (105)	0,90
Castellan et al. (106)	1,00
Cavalcanti et al. (107)	1,00
Cecchin et al. (108)	1,00
Chang et al. (109)	1,00
Chang et al. (110)	0,36
Ding et al. (48)	0,09
Do Amaral et al. (111)	0,92
El Zohary et al. (112)	0,75
Gianini et al. (113)	1,00
Hiraisi et al. (114)	0,81
Hoshika et al. (115)	1,00
Kunawarote et al. (116)	0,49
Margvelashvili et al. (117)	1,00
Marquezan et al. (118)	1,00
Osorio et al. (119)	1,00
Osorio et al. (120)	1,00
Pavan et al. (121)	1,00
Peerzada et al. (122)	0,81
Ricci et al. (123)	0,81
Sadek et al. (124)	0,81
Sarr et al. (125)	0,90
Sarr et al. (126)	1,00
Sauro et al. (127)	0,90
Soares et al. (128)	0,49
Xie et al. (129)	0,49
Zanchi et al.(130)	0,70

Tabla 2. Criterios de Inclusión
Dientes humanos o Bovinos
Sistema adhesivo testado: <i>Clearfil SE Bond</i> (aplicado según instrucciones del fabricante)
No existencia de presión pulpar simulada
Resistencia adhesiva testada en dentina coronal
Restauración con resina compuesto convencional
Sin proceso de envejecimiento
μ TBS medida a las 24 horas máximo
Área media y valores de μ TBS disponibles en el artículo
Publicados en Inglés
Año de publicación: 2007, 2008 o 2009.

Tabla 3. Tamaño del AA y valor de μ TBS para el adhesivo Clearfil SE Bond, publicado en 2007-2009.

Año	Autor(es)	μ TBS (MPa)	AA (mm ²)
2007	França et al. (131)	31,8	1,00
	Frankerberg et al. (132)	73,0	0,50
	Hosaka et al. (133)	44,2	1,00
	Ishikawa et al. (134)	42,3	0,80
	Pangrisomboon et al. (135)	26,7	1,00
		40,8	1,00
		43,7	1,00
	Sattabanasuk et al. (136)	41,8	0,52
		42,0	0,52
		43,3	0,52
		43,4	0,52
		51,1	0,52
		54,9	0,52
	Waidyraserera et al. (137)	45,8	0,90
2008	Abdalla et al. (138)	41,0	1,10
	Bagis et al. (139)	25,1	1,10
		25,2	1,10
	Cardoso et al. (140)	43,4	0,94
	Cardoso et al. (141)	41,5	0,94
	de Goes et al. (142)	32,9	0,90
		54,1	0,90
	Ermis et al. (143)	56,2	0,74
		60,3	0,74
		49,8	0,74
	Lima et al. (144)	50,7	0,50
	Osorio et al. (145)	40,2	1,00
	Piva et al. (146)	35,6	0,70
	Sadek et al. (147)	50,0	0,81
		52,0	0,81
	Yildirim et al. (148)	37,3	1,00
	Yiu et al. (149)	47,3	0,80
		29,9	0,80
		30,5	0,80
		39,9	0,80
		40,8	0,80
		40,8	0,80
2009	Campos et al. (150)	47,3	0,80
		18,2	1,00
		30,6	0,80
	do Amaral et al. (72)	21,6	0,80
		44,0	1,00
	Erhardt et al. (76)	44,0	1,00

Garcia et al. (151)	37,5	0,70
	51,8	0,70
	51,8	0,70
	54,4	0,70
	54,5	0,70
	61,5	0,70
	64,6	0,70
	67,6	0,70
Ilda et al. (152)	46,3	1,00
Jung et al. (82)	47,3	0,80
Marques et al. (87)	20,2	0,80
	25,5	0,80
	26,0	0,80
	27,7	0,80
	28,8	0,80
	28,9	0,80
	31,9	0,80
	32,6	0,80
Purk et al. (94)	33,3	0,80
	34,8	0,80
	55,0	0,50
	59,3	0,50
Van Landuyt et al (51)	35,1	0,94
Zhou et al. (99)	63,1	0,60
	64,9	0,60
	67,4	0,60
	68,6	0,60

Tabla 4. Distribución del AA por grupos.

Tipo de especimen	n	m	SD	min	max
μTBS (interfase)	168	1.13	0.61	0.38	4.51
μTCS (dentina)	185	0.51	0.21	0.1	1.15

Tabla 5. μ TBS, μ TCS, y residuos de algunos materiales y de la dentina, en el ejemplo.

Material	n	μ TBS/ μ TCS (MPa)			Residuos			Incremento porcentual de CV al usar residuos	
		m	SD	CV	m	SD	CV		
Clearfil Bond	S3	11	22.2	14.7	0.66	-2.5	14.3	5.72	2.7
Xeno V		16	11.9	6.8	0.57	-	6.7	0.49	1.5
						13.6			
Dentin		61	31.0	12,3	0.39	8.5	12,6	1.48	-2.4
Optibond in-one	All-	17	44.3	13.4	0.3	19.2	12.9	0.67	3.7

Tabla 6. Simulación estadística. Valores de AA y TBS divididos por grupos.					
Grupo A		Grupo B		Grupo C	
AA	μTBS	AA	μTBS	AA	μTBS
0,72	80,17	1,28	40,25	0,96	81,91
0,89	57,28	0,92	59,82	0,81	82,95
0,84	88,39	0,90	69,59	1,20	52,66
0,83	79,64	1,13	45,68	1,23	65,05
0,53	115,55	0,74	58,52	1,15	33,15
0,55	108,96	0,97	103,69	0,98	42,74
0,84	83,11	1,21	24,29	1,05	71,90
1,23	2,57	0,65	83,22	1,38	31,65
0,86	72,83	0,91	43,11	1,02	72,09
0,84	57,46	0,79	61,42	1,04	42,64
0,83	77,29	0,90	58,86	1,23	48,89
0,67	62,18	0,71	68,15	1,22	32,18
1,19	31,89	1,23	64,75	0,97	61,24
0,73	60,92	1,28	30,51	1,31	10,54
0,81	76,66	0,69	82,96	1,16	22,24
0,54	117,88	0,96	71,94	1,02	45,91
0,60	126,59	1,06	40,12	1,09	22,00
1,10	25,70	0,98	83,11	1,24	52,00
1,05	40,57	1,06	73,90	1,22	33,70
1,02	53,08	1,00	52,65	0,84	73,66
0,90	41,85	0,90	56,77	1,31	21,29
0,72	98,74	1,16	53,63	1,05	74,29
1,20	23,80	0,99	57,89	1,16	42,16
0,85	71,72	0,98	34,71	1,09	35,38
0,90	49,11	1,04	58,48	0,93	61,48

Tabla 7. Estadísticos descriptivos para TBS y Residuos.

		Grupo		
		A	B	C
TBS	Media	68.2	59.1	48.5
	Desv tip.	31.3	18.5	20.6
Residuos	Media	-3.1	1.1	2.0
	Desv tip.	15,3	17,1	15.1

Tabla 8. Pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk

		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
μ TBS	A	.985	25	.959
	B	.980	25	.889
	C	.960	25	.422
Residuos	A	.985	25	.965
	B	.938	25	.135
	C	.970	25	.652

Tabla 9. ANOVA de los valores de μ TBS por grupos.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4816.057	2	2408.028	4.131	.020
Intra-grupos	41972.226	72	582.948		
Total	46788.283	74			

Tabla 10. Prueba homogeneidad de varianzas.

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
μ TBS	4.100	2	72	.021
Residuos	.023	2	72	.977

Tabla 11. Comparaciones múltiples. Variable dependiente μTBS					
	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencias de (I-J)	Error típico	Sig.
Tamhane	A	B	9.07*	7.28	.53
		C	19.61*	7.5	.04
	B	A	-9.04*	7.28	.54
		C	10.57*	5.54	.18
	C	A	-19.61*	7.5	.04
		B	-10.57	5.54	.18

Tabla 12. ANOVA para Residuos entre grupos.					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	380.744	2	190.372	.756	.473
Intra-grupos	181228.345	72	251.783		
Total	18509.089	74			

VII. FIGURAS

Figura 1. Número de publicaciones encontradas por año al buscar ensayos de microtracción. Años 1994 - 2010, citadas en PubMed.

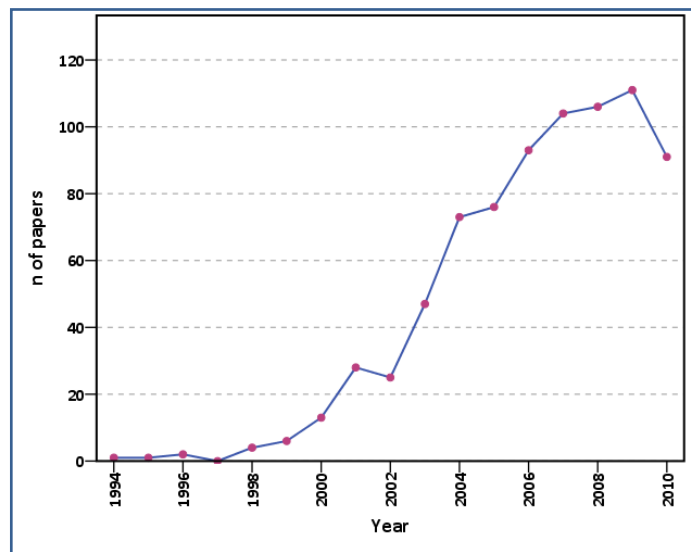


Figura 2. Áreas medias utilizadas en 71 estudios seleccionados de forma aleatoria citados en la Tabla 1. Ordenados por tamaño del AA.

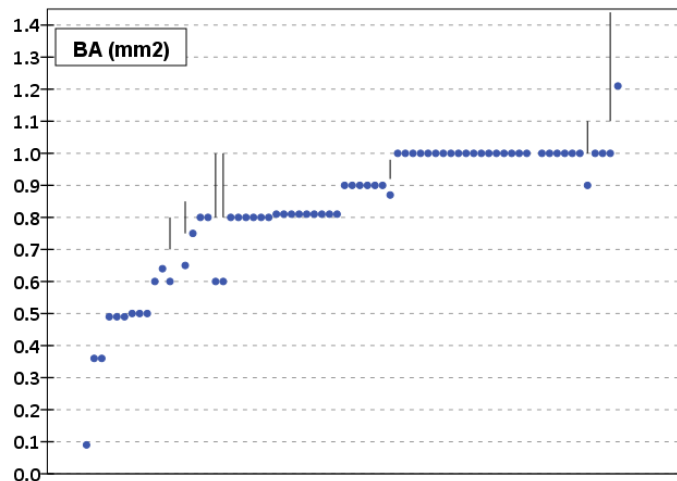


Figura 3. Relación de μ TBS con AA para el adhesivo Clearfil SE Bond según se reporta en la literatura. Se sobrepone la línea de regresión logarítmica (μ TBS = $34.9 - 31.9 \cdot \ln[BA]$), $p = 0.000002$, $r^2 = 0.29$.

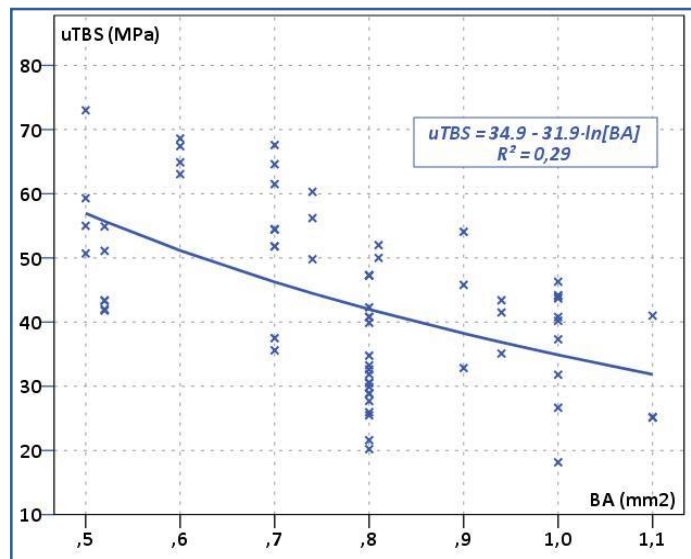


Figura 4. Relación μ TBS - AA relationship as mencionada en la tabla 1 del trabajo publicado por Stamatacos-Mercer y Hottel, en 2005 (28). La línea de regresión exponencial (μ TBS = $23.26 \cdot BA^{-0.51}$) sobrepuesta. Se usa una escala logarítmica en el eje X para discriminar las áreas menores..

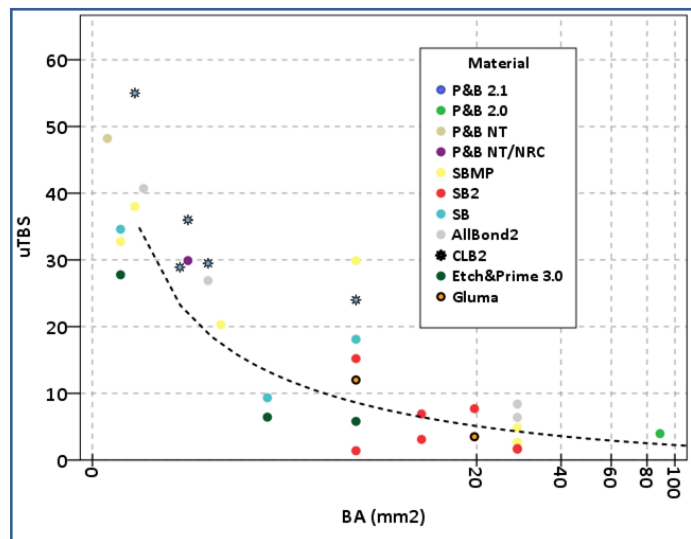


Figura 5. Figura 3 del trabajo publicado por Sheikh et al., en 2010 (43) (con permiso).

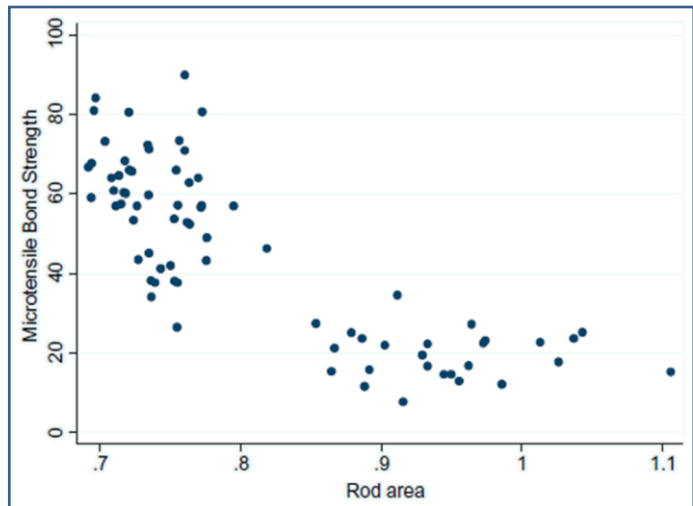


Figura 6. Datos cedidos por LBRC de los resultados de μ TBS respecto al adhesivo Clearfil SE Bond. Relación μ TBS - AA.

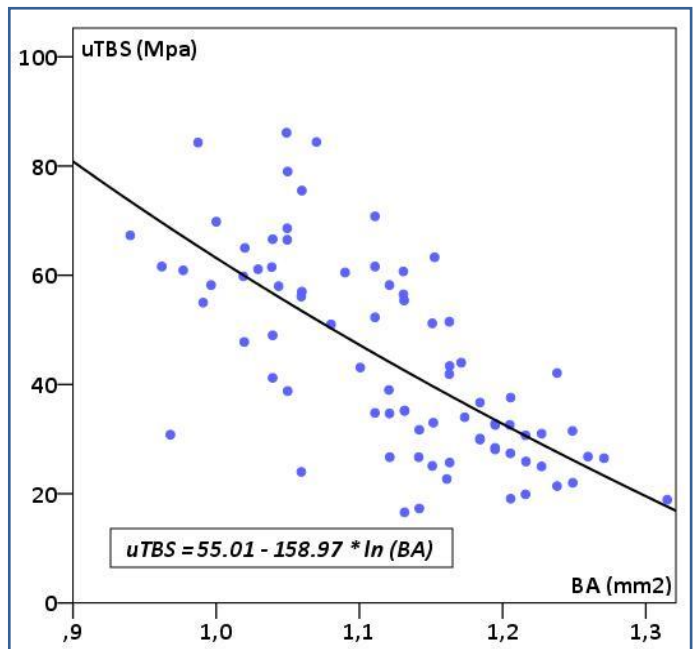


Figura 7. Ejemplo de preparación de especímenes. Molar (A) raíces y esmalte coronal son removidos (B). Se preparan paredes paralelas en la cara oclusal (C), y el diente se restaura con Z-250 y el sistema adhesivo correspondiente (D). El diente restaurado fue seccionado de forma paralela y perpendicular a las ranuras (E) para obtener AArras. Todas las AArras fueron adelgazadas al mismo nivel (flechas rojas en F), para producir especímenes y testar la μ TBS de los adhesivos (de ranuras) o la μ TCS de la dentina (espacio inter-ranura).

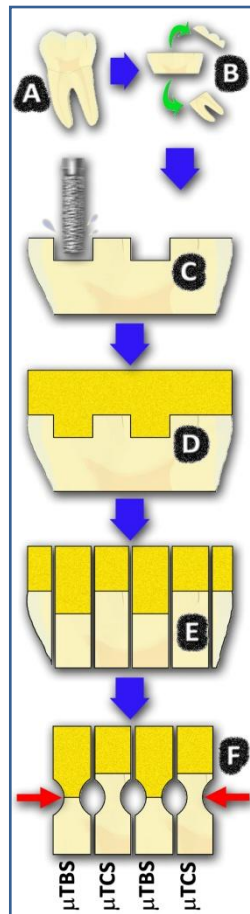


Figura 8. Relación del AA con μ TBS o μ TCS. Para evitar superposiciones, la μ TCS (dentina) y la μ TBS (interfase) han sido separadas.

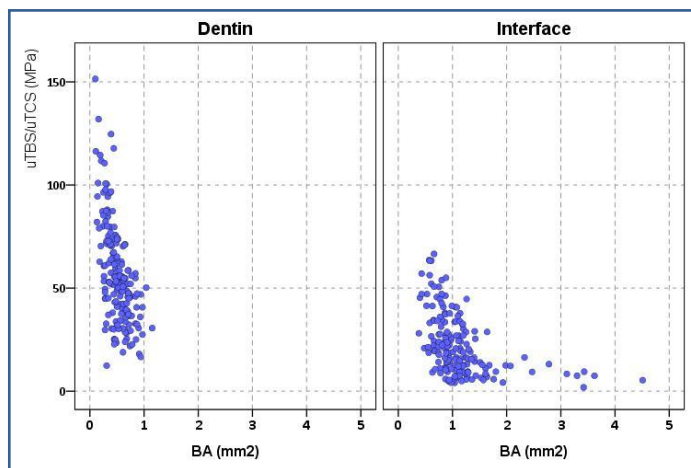


Figura 9. Distribucion general de los resultados de μ TBS/ μ TCS – AA. Se sobrepone una línea de regresión exponencial: $T = 22.36 * AA^{-1.085}$, $r^2 = 0.47$, $p < 0.00001$), donde T es μ TBS o μ TCS result (in MPa), y AA es el área seccional adherida (en mm^2).

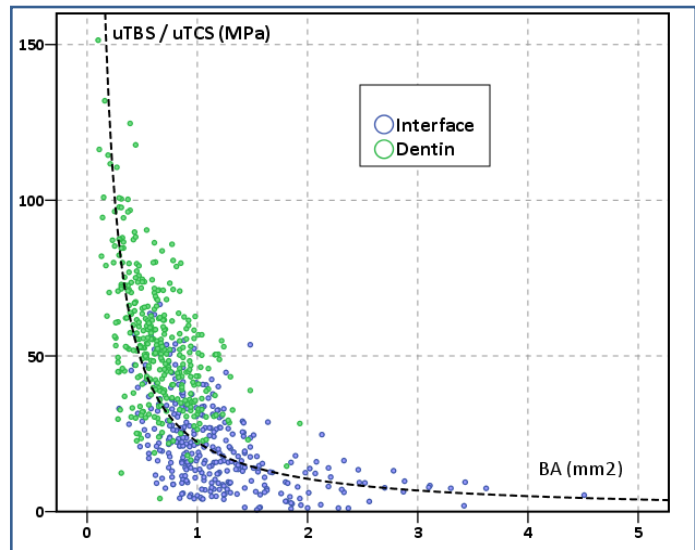


Figura 10. Residuos de los datos aportados por el laboratorio LBRC respecto al valor del AA de los especímenes. La variabilidad aumenta cuando la AA disminuye.

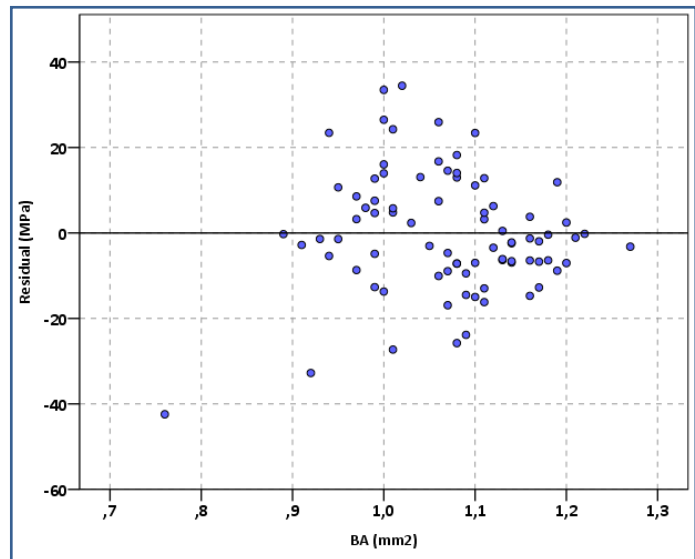


Figura 11. Residuos de los datos de nuestro laboratorio respecto a los valores del AA. La variabilidad aumenta cuando el AA decrece.

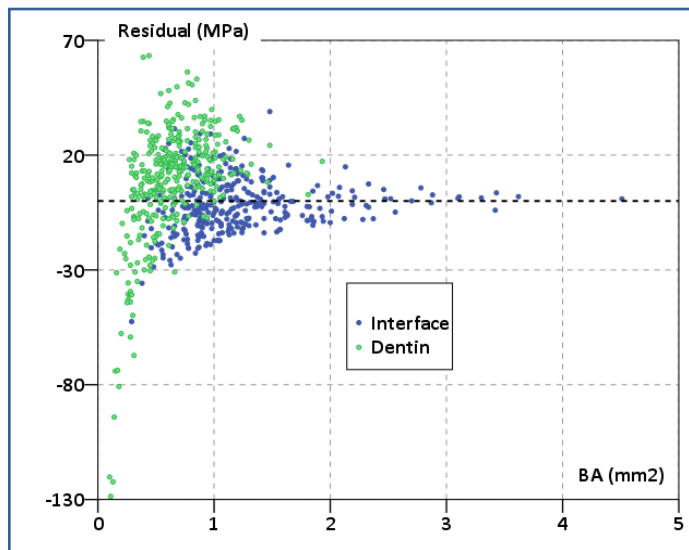


Figura 12. Gráficos boxplot de μ TBS/ μ TCS (azul) y de los residuos (naranja) para Xeno V, Optibond All-in-one and Clearfil S3 Bond y para la dentina. Los valores medios de los residuos de Xeno V y Clearfil S3 Bond son negativos. Los valores de μ TBS/ μ TCS values son 25.08 MPa (aproximadamente el valor de la regresión para el rango de AA) mayores que sus correspondientes residuos. Todos los adhesivos y la dentina tiene algún residuo negativo..

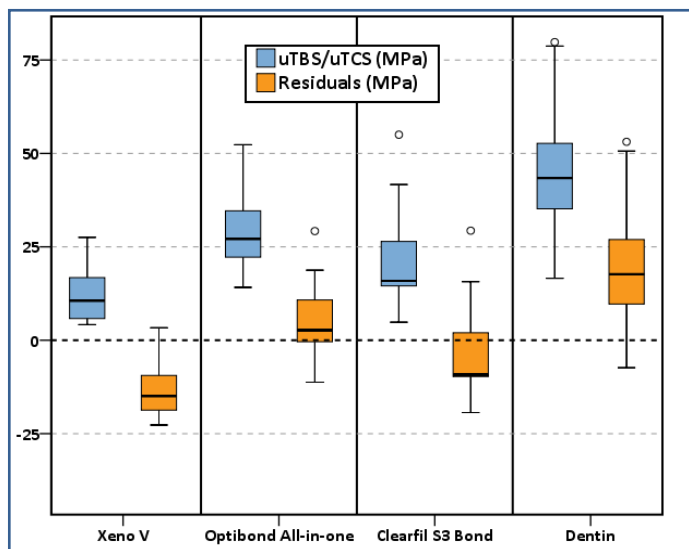


Figura 13. Gráfico de dispersión que relaciona la resistencia adherida (TBS) con el área de cada espécimen (BA). Están representados los grupos A, B y C.

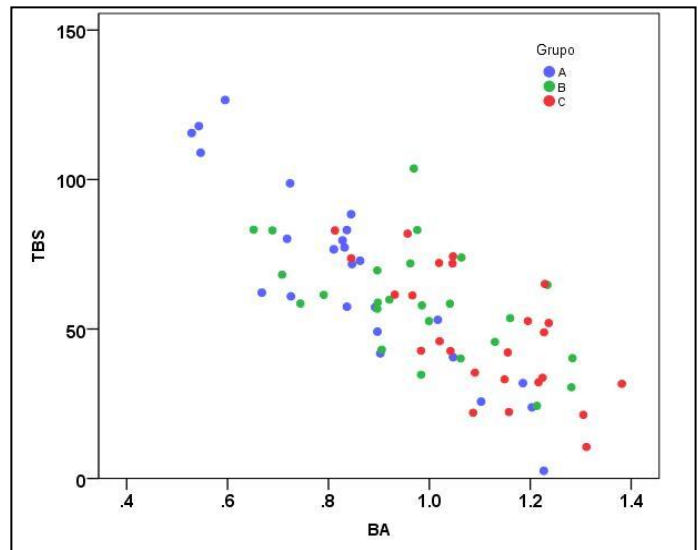


Figura 14. Gráficos de dispersión que muestran la distribución de la relación TBS-BA. Por grupos.

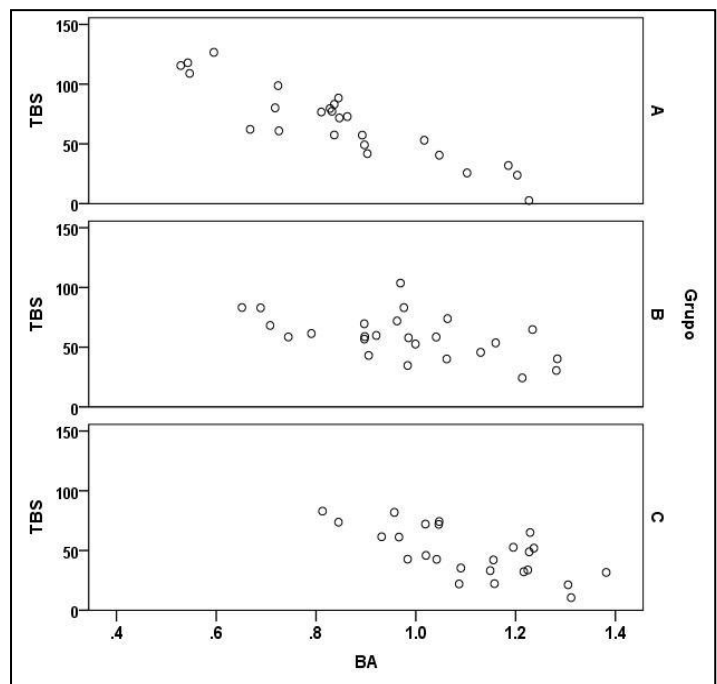


Figura 15. Gráfica de dispersión que relaciona la resistencia adherida (TBS) con el área de cada espécimen (BA). Está representada la línea de regresión que marca la hipótesis nula ($TBS = 54.562 - 84.623 * \ln(AA)$).

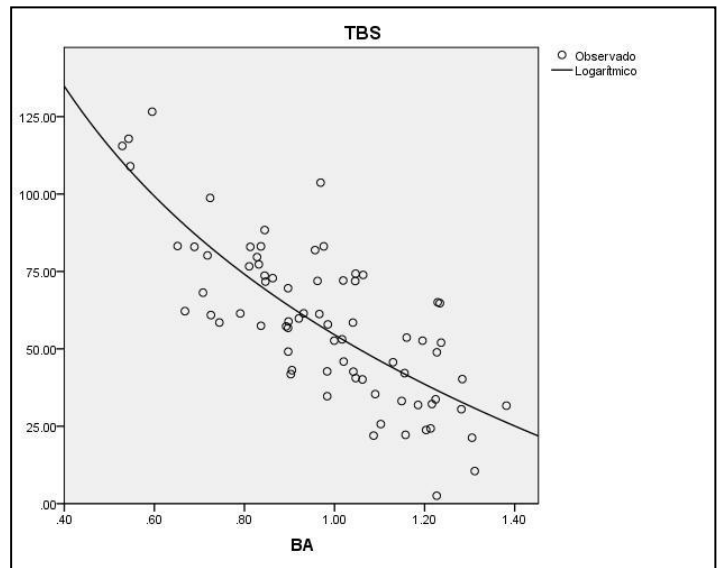
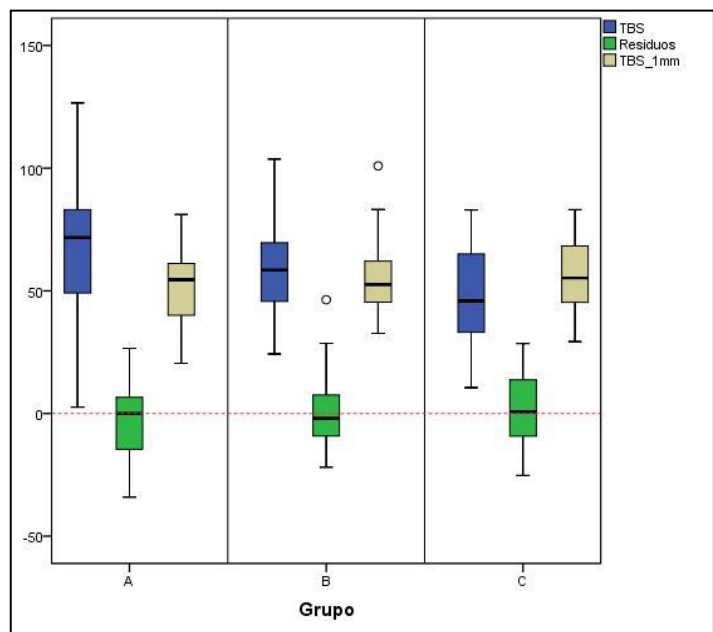


Figura 16. Gráfica tipo Boxplot. Están representados los TBS medios, los residuos y el valor de TBS para 1mm2 (valor de referencia)



VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res.* 1955 December 1, 1955;34(6):849-53.
2. Nakabayashi N. Bonding mechanism of resins and the tooth. *Kokubyo Gakkai Zasshi.* 1982;49(2):410.
3. Soderholm K-JM. Critical Evaluation of Adhesive Test Methods Used in Dentistry. *Journal of Adhesion Science and Technology.* 2009;23:973-90.
4. van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, van Ende A, Neves A, et al. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater.* 2010;26(2):e100-e21.
5. Heintze S. Systematic Reviews: I. The Correlation Between Laboratory Tests on Marginal Quality and Bond Strength II. The correlation between marginal quality and clinical outcome. *J Adh Dent.* 2007;9(9):77-106.
6. van Landuyt KL, Snauwaert J, de Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomater.* 2007;28(26):3757-85.
7. Alwin K, Florian Klaus F, Marcel G, Raimund H. Dentin and enamel: Unique biological media for studying the dependence of light propagation on microstructure. *Biomedical Topical Meeting.* 2004:FF6.
8. Huo B. An inhomogeneous and anisotropic constitutive model of human dentin. *Journal of Biomechanics.* 2005;38(3):587-94.
9. Zhang ZL, Odegard J, Sovik OP, Thaulow C. A study on determining true stress-strain curve for anisotropic materials with rectangular tensile bars. *International Journal of Solids and Structures.* 2001;38(26-27):4489-505.
10. Carvalho RM, Santiago SL, Fernandes CA, Suh BI, Pashley DH. Effects of prism orientation on tensile strength of enamel. *J Adh Dent.* 2000 Winter;2(4):251-7.
11. Kelly JR. Perspectives on strength. *Dent Mater.* 1995;11(2):103-10.
12. van Noort R, Noroozi S, Howard IC, Cardew G. A critique of bond strength measurements. *J Dent.* 1989;17(2):61-7.
13. Darvell BW. Adhesion Strength Testing Time to Fail or a Waste of Time? *Journal of Adhesion Science and Technology.* 2009;23:935-44.
14. Hosaka K, Nakajima M, Takahashi M, Itoh S, Ikeda M, Tagami J, et al. Relationship between mechanical properties of one-step self-etch adhesives and water sorption. *Dent Mater.* 2010 Apr;26(4):360-7.
15. Ghassemieh E. Evaluation of sources of uncertainties in microtensile bond strength of dental adhesive system for different specimen geometries. *Dent Mater.* 2008;24(4):536-47.
16. Urabe I, Nakajima S, Sano H, Tagami J. Physical properties of the dentin-enamel junction region. *Am J Dent.* 2000 Jun;13(3):129-35.
17. Betamar N, Cardew G, van Noort R. The Effect of Variations in Hourglass Specimen Design on Microtensile Bond Strength to Dentin. *J Adh Dent.* 2007;9(5):427-36.
18. Betamar N, Cardew G, van Noort R. Influence of Specimen Designs on the Microtensile Bond Strength of Dentin. *J Adh Dent.* 2007;9(2):159-68.
19. Neves AdA, Coutinho E, Poitevin A, van der Sloten J, van Meerbeek B, van Oosterwyck H. Influence of joint component mechanical properties and adhesive layer thickness on stress distribution in micro-tensile bond strength specimens. *Dent Mater.* 2009;25(1):4-12.

20. Ceriolo L, Tomasso AD, editors. Fracture mechanics of brittle materials A Historical point of view 2nd Int PhD Symposium in Civil Engineering; 1998; Budapest.
21. Chen K-K, Shono Y, Ogawa T, Kozono Y, Terashita M. Fracture aspects of resin-dentin bonding in non-trimming microtensile test. *Dent Mater J*. 2001 Dec;20(4):315-24.
22. Ferrari M, Goracci C, Sadek F, Eduardo P, Cardoso C. Microtensile bond strength tests: scanning electron microscopy evaluation of sample integrity before testing. *Eur J Oral Sci*. 2002 Oct;110(5):385-91.
23. Griffith AA. The phenomena of rupture and flow in solids. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. 1920;221:163-98.
24. Okuno O. Micro-tensile testing machine. Tokyo Ika Shika Daigaku Iyo Kizai Kenkuusho Hokoku. 1970;4:75-8.
25. Armstrong S, Geraldini S, Maia R, Raposo LHA, Soares CJ, Yamagawa J. Adhesion to tooth structure: A critical review of "micro" bond strength test methods. *Dent Mater*. 2010;26(2):e50-e62.
26. Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, et al. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength -- Evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent Mater*. 1994;10(4):236-40.
27. Sano H, Ciucchi B, Matthews WG, Pashley DH. Tensile Properties of Mineralized and Demineralized Human and Bovine Dentin. *J Dent Res*. 1994 June 1, 1994;73(6):1205-11.
28. Stamatacos-Mercer C, Hottel TL. The validity of reported tensile bond strength utilizing non-standardized specimen surface areas. An analysis of *in vitro* studies. *Am J Dent*. 2005;18:105-8.
29. Pashley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, et al. The microtensile bond test: a review. *J Adh Dent*. 1999 Winter;1(4):299-309.
30. Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dent Mater*. 1995 Mar;11(2):117-25.
31. Tay FR, Pashley DH. Resin bonding to cervical sclerotic dentin: A review. *J Dent*. 2004;32(3):173-96.
32. de Munck J, van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, et al. A Critical Review of the Durability of Adhesion to Tooth Tissue: Methods and Results. *J Dent Res*. 2005 February 1, 2005;84(2):118-32.
33. van Noort R. Clinical relevance of laboratory studies on dental materials: strength determination - a personal view. *J Dent*. 1994;22(Supplement 1):S4-S8.
34. Scherrer SS, Cesar PF, Swain MV. Direct comparison of the bond strength results of the different test methods: A critical literature review. *Dent Mater*. 2010;26(2):e78-e93.
35. Poitevin A, de Munck J, van Landuyt K, Coutinho E, Peumans M, Lambrechts P, et al. Critical analysis of the influence of different parameters on the microtensile bond strength of adhesives to dentin. *J Adh Dent*. 2008;10(1):7-16.
36. Phrukkanon S, Burrow MF, Tyas MJ. The influence of cross-sectional shape and surface area on the microtensile bond test. *Dent Mater*. 1998;14(3):212-21.
37. van Noort R, Cardew G, Howard I, Norozzi S. The effect of local interfacial geometry on the measurement of the tensile bond strength to dentin. *J Dent Res*. 1991;70:889-93.
38. Rasmussen ST. Analysis of dental shear bond strength tests, shear or tensile? *International Journal of Adhesion and Adhesives*. 1996;16(3):147-54.

39. Matsui K. Effects of size on nominal ultimate tensile stresses of adhesive-bonded circular or rectangular joints under bending or peeling load. *International Journal of Adhesion and Adhesives*. 1990;10(2):90-8.
40. Goracci C, Sadek FT, Monticelli F, Cardoso PEC, Ferrari M. Influence of substrate, shape, and thickness on microtensile specimens' structural integrity and their measured bond strengths. *Dent Mater*. 2004;20(7):643-54.
41. Soares CJ, Soares PV, Santos-Filho PCF, Armstrong SR. Microtensile Specimen Attachment and Shape Finite Element Analysis. *J Dent Res*. 2008 January 1, 2008;87(1):89-93.
42. Meira J, Souza R, Driemeier L, Ballester R. Stress concentration in microtensile tests using uniform material. *J Adh Dent*. 2004;6(4):267-73.
43. Sheikh H, Heymann HO, Swift JEJ, Ziemiecki TL, Ritter AV. Effect of Saliva Contamination and Cleansing Solutions on the Bond Strengths of Self-Etch Adhesives to Dentin. *J Esthet Restor Dent*. 2010;22(6):402-10.
44. Phrukkanon S, Burrow MF, Tyas MJ. Effect of cross-sectional surface area on bond strengths between resin and dentin. *Dent Mater*. 1998;14(2):120-8.
45. Shono Y, Terashita M, Pashley EL, Brewer PD, Pashley DH. Effects of cross-sectional area on resin-enamel tensile bond strength. *Dent Mater*. 1997;13(5-6):290-6.
46. Escribano NI, Del-Nero MO, de la Macorra JC. Inverse relationship between tensile bond strength and dimensions of bonded area. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2003 Jul 15;66(1):419-24.
47. de la Macorra JC, San-Nicolas A. Method to compare m-tensile bond strength of a self-etching adhesive and m-cohesive strength of adjacent dentin. *Dent Mater*. 2005;21(10):946-53.
48. Ding PGF, Matzer ARAH, Wolff D, Mente J, Pioch T, Staehle HJ, et al. Relationship between microtensile bond strength and submicron hiatus at the composite-dentin interface using CLSM visualization technique. *Dent Mater*. 2010;26(3):257-63.
49. Cardoso MV, Delmé KIM, Mine A, Neves AdA, Coutinho E, De Moor RJG, et al. Towards a better understanding of the adhesion mechanism of resin-modified glass-ionomers by bonding to differently prepared dentin. *J Dent*. 2010;38(11):921-9.
50. Loomans BAC, Mine A, Roeters FJM, Opdam NJM, de Munck J, Huysmans MCDNJM, et al. Hydrofluoric acid on dentin should be avoided. *Dent Mater*. 2010;26(7):643-9.
51. van Landuyt KL, Mine A, de Munck J, Jaecques S, Peumans M, Lambrechts P, et al. Are one-step adhesives easier to use and better performing? Multifactorial assessment of contemporary one-step self-etching adhesives. *J Adh Dent*. 2009 Jun;11(3):175-90.
52. de Munck J, Mine A, van den Steen PE, van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G, et al. Enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces produced by mild self-etch adhesives. *Eur J Oral Sci*. 2010;118(5):494-501.
53. de Munck J, van den Steen PE, Mine A, van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G, et al. Inhibition of Enzymatic Degradation of Adhesive-Dentin Interfaces. *J Dent Res*. 2009 December 1, 2009;88(12):1101-6.
54. Frackowiak RSJ, Friston KJ, Frith CD, Dolan RJ, Price CJ, Zeki S, et al. *The General Linear Model. Human Brain Function (Second Edition)*. Burlington: Academic Press; 2004. p. 725-60.
55. Miller J, Haden P. *Statistical analysis with the General Linear Model: Creative Commons 2.5*; 2006.

56. Ausiello P, Apicella A, Davidson CL. Effect of adhesive layer properties on stress distribution in composite restorations--a 3D finite element analysis. *Dent Mater.* 2002;18(4):295-303.
57. Coelho PG, Calamia C, Harsono M, Thompson VP, Silva NRFA. Laboratory and FEA evaluation of dentin-to-composite bonding as a function adhesive layer thickness. *Dent Mater.* 2008;24(10):1297-303.
58. Coelho Santos MJ, Navarro MF, Tam L, McComb D. The effect of dentin adhesive and cure mode on film thickness and microtensile bond strength to dentin in indirect restorations. *Op Dent.* 2005 Jan-Feb;30(1):50-7.
59. D'Arcangelo C, Vanini L, Prosperi GD, Di Bussolo G, De Angelis F, D'Amario M, et al. The influence of adhesive thickness on the microtensile bond strength of three adhesive systems. *J Adh Dent.* 2009 Apr;11(2):109-15.
60. Ito S, Tay FR, Hashimoto M, Yoshiyama M, Saito T, Brackett WW, et al. Effects of multiple coatings of two all-in-one adhesives on dentin bonding. *J Adh Dent.* 2005 Summer;7(2):133-41.
61. Harris EF, Smith RN. Accounting for measurement error: A critical but often overlooked process. *Arch Oral Biol.* 2009;54(Supplement 1):S107-S17.
62. Aksornmuang J, Nakajima M, Panyayong W, Tagami J. Effects of photocuring strategy on bonding of dual-cure one-step self-etch adhesive to root canal dentin. *Dent Mater J.* 2009 Mar;28(2):133-41.
63. Arisu HD, Eliguzeloglu E, Uctasli MB, Omurlu H. Effect of multiple consecutive applications of one-step self-etch adhesive on microtensile bond strength. *Journal of Contemporary Dental Practice.* 2009;10(2):67-74.
64. Bagis B, Turkaslan S, Vallittu PK, Lassila LV. Effect of high frequency ultrasonic agitation on the bond strength of self-etching adhesives. *J Adh Dent.* 2009 Oct;11(5):369-74.
65. Bakry AS, Nakajima M, Otsuki M, Tagami J. Effect of Er:YAG laser on dentin bonding durability under simulated pulpal pressure. *J Adh Dent.* 2009 Oct;11(5):361-8.
66. Breschi L, Cammelli F, Visintini E, Mazzoni A, Vita F, Carrilho M, et al. Influence of chlorhexidine concentration on the durability of etch-and-rinse dentin bonds: a 12-month in vitro study. *J Adh Dent.* 2009 Jun;11(3):191-8.
67. Cadenaro M, Delise C, Antoniello F, Navarra OC, Di Lenarda R, Breschi L. Enamel and dentin bond strength following gaseous ozone application. *J Adh Dent.* 2009 Aug;11(4):287-92.
68. Carvalho AP, Turbino ML. Can previous acid etching increase the bond strength of a self-etching primer adhesive to enamel? *Braz Oral Res.* 2009 Apr-Jun;23(2):169-74.
69. Cavalli V, Shinohara MS, Ambrose W, Malafaia FM, Pereira PN, Giannini M. Influence of intracoronal bleaching agents on the ultimate strength and ultrastructure morphology of dentine. *Int End J.* 2009 Jul;42(7):568-75.
70. Chaves CAL, Regis RR, Machado AL, Souza RF. Effect of ridge lap surface treatment and thermocycling on microtensile bond strength of acrylic teeth to denture base resins. *Braz Dent J.* 2009;20(2):127-31.
71. Chung CW, Yiu CK, King NM, Hiraishi N, Tay FR. Effect of saliva contamination on bond strength of resin luting cements to dentin. *J Dent.* 2009 Dec;37(12):923-31.
72. do Amaral RC, Stanislawczuk R, Zander-Grande C, Michel MD, Reis A, Loguercio AD. Active application improves the bonding performance of self-etch adhesives to dentin. *J Dent.* 2009;37(1):82-90.

73. Duarte S, Jr., de Freitas CR, Saad JR, Sadan A. The effect of immediate dentin sealing on the marginal adaptation and bond strengths of total-etch and self-etch adhesives. *J Prosthet Dent.* 2009 Jul;102(1):1-9.
74. Duarte S, Jr., Phark JH, Varjao FM, Sadan A. Nanoleakage, ultramorphological characteristics, and microtensile bond strengths of a new low-shrinkage composite to dentin after artificial aging. *Dent Mater.* 2009 May;25(5):589-600.
75. Ergucu Z, Celik EU, Unlu N, Turkun M, Ozer F. Effect of Er,Cr:YSGG laser on the microtensile bond strength of two different adhesives to the sound and caries-affected dentin. *Op Dent.* 2009 Jul-Aug;34(4):460-6.
76. Erhardt MC, Osorio R, Pisani-Proenca J, Aguilera FS, Osorio E, Breschi L, et al. Effect of double layering and prolonged application time on MTBS of water/ethanol-based self-etch adhesives to dentin. *Op Dent.* 2009 Sep-Oct;34(5):571-7.
77. Ferreira LS, Francci C, Navarro RS, Calheiros FC, Eduardo Cde P. Effects of Nd:YAG laser irradiation on the hybrid layer of different adhesive systems. *J Adh Dent.* 2009 Apr;11(2):117-25.
78. Garcia EJ, Gomes OM, Gomes JC. In vitro analysis of bond strength of self-etching adhesives applied on superficial and deep dentin. *Acta Odontologica Latinoamericana.* 2009;22(1):57-62.
79. Giachetti L, Bambi C, Nieri M, Scaminaci Russo D. Double microtensile bond strength test: an alternative methodology for sample preparation. *Eur J Oral Sci.* 2009 Apr;117(2):204-7.
80. Goncalves LS, Consani S, Sinhoreti MA, Schneider LF, Saboia Vde P. Effect of storage and compressive cycles on the bond strength after collagen removal. *Op Dent.* 2009 Nov-Dec;34(6):681-7.
81. Hiraishi N, Yiu CK, King NM, Tay FR. Effect of 2% chlorhexidine on dentin microtensile bond strengths and nanoleakage of luting cements. *J Dent.* 2009 Jun;37(6):440-8.
82. Jung YJ, Hyun HK, Kim YJ, Jang KT. Effect of collagenase and esterase on resin-dentin interface: a comparative study between a total-etch adhesive and a self-etch adhesive. *Am J Dent.* 2009 Oct;22(5):295-8.
83. Li ZM, Qiu LH, Sun HY. [Effect of pulse Nd:YAG laser on micro-tensile bond strength of non-carious sclerotic dentin to resin]. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue.* 2009 Aug;18(4):346-9.
84. Loguercio AD, Loeblein F, Cherobin T, Ogliari F, Piva E, Reis A. Effect of solvent removal on adhesive properties of simplified etch-and-rinse systems and on bond strengths to dry and wet dentin. *J Adh Dent.* 2009 Jun;11(3):213-9.
85. Loguercio AD, Stanislawczuk R, Polli LG, Costa JA, Michel MD, Reis A. Influence of chlorhexidine digluconate concentration and application time on resin-dentin bond strength durability. *Eur J Oral Sci.* 2009 Oct;117(5):587-96.
86. Manso AP, Bedran-Russo AK, Suh B, Pashley DH, Carvalho RM. Mechanical stability of adhesives under water storage. *Dent Mater.* 2009 Jun;25(6):744-9.
87. Marques M, Kenshima S, Muench A, Ballester E, Filho L. Effect of the C-factor and Dentin Preparation Method in the Bond Strength of a Mild Self-etch Adhesive. *Op Dent.* 2009;34(4):454-61.
88. Marquezan M, Fagundes TC, Toledano M, Navarro MF, Osorio R. Differential bonds degradation of two resin-modified glass-ionomer cements in primary and permanent teeth. *J Dent.* 2009 Nov;37(11):857-64.

89. Moura SK, Reis A, Pelizzaro A, Dal-Bianco K, Loguercio AD, Arana-Chavez VE, et al. Bond strength and morphology of enamel using self-etching adhesive systems with different acidities. *Journal of Applied Oral Science*. 2009 Jul-Aug;17(4):315-25.
90. Orellana N, Ramirez R, Roig M, Giner L, Mercade M, Duran F, et al. Comparative study of the microtensile bond strength of three different total etch adhesives with different solvents to wet and dry dentin (in vitro test). *Acta Odontol Latinoam*. 2009;22(1):47-56.
91. Osorio R, Monticelli F, Moreira MA, Osorio E, Toledano M. Enamel-resin bond durability of self-etch and etch & rinse adhesives. *Am J Dent*. 2009 Dec;22(6):371-5.
92. Ounsi HF, Salameh Z, Carvalho CA, Cantoro A, Grandini S, Ferrari M. Bond strength of composite core build-up materials to fiber-reinforced posts: a microtensile comparison between conventional and wet-ethanol bonding systems. *J Adh Dent*. 2009 Oct;11(5):375-80.
93. Pereira PC, Castilho AA, Souza RO, Passos SP, Takahashi FE, Bottino MA. A comparison of the film thickness of two adhesive luting agents and the effect of thermocycling on their microTBs to feldspathic ceramic. *Acta Odontol Latinoam*. 2009;22(3):191-200.
94. Purk JH, Dusevich V, Atwood J, Spencer BD, Kruse D, Webb T, et al. Microtensile dentin adhesive bond strength under different positive pulpal pressures. *Am J Dent*. 2009 Dec;22(6):357-60.
95. Reis A, Moura K, Pellizzaro A, Dal-Bianco K, de Andrade AM, Loguercio AD. Durability of enamel bonding using one-step self-etch systems on ground and unground enamel. *Op Dent*. 2009 Mar-Apr;34(2):181-91.
96. Rodrigues SA, Ferracane JL, Della-Bona A. Influence of surface treatments on the bond strength of repaired resin composite restorative materials. *Dent Mater*. 2009;25(4):442-51.
97. Shinohara MS, De Goes MF, Schneider LF, Ferracane JL, Pereira PN, Di Hipolito V, et al. Fluoride-containing adhesive: durability on dentin bonding. *Dent Mater*. 2009 Nov;25(11):1383-91.
98. Viotti RG, Kasaz A, Pena CE, Alexandre RS, Arrais CA, Reis AF. Microtensile bond strength of new self-adhesive luting agents and conventional multistep systems. *Journal of Prosthetic Dentistry* 2009;102(5):306-12.
99. Zhou J, Tan J, Chen L, Li D, Tan Y. The incorporation of chlorhexidine in a two-step self-etching adhesive preserves dentin bond in vitro. *J Dent*. 2009 Oct;37(10):807-12.
100. Abdalla AI. Bond strength of a total-etch and two self-etch adhesives to dentin with and without intermediate flowable liner. *Am J Dent*. 2010 Jun;23(3):157-60.
101. Almeida JC, Osorio R, Garcia FC, Osorio E, Carvalho RM, Toledano M. Effect of oxalate desensitizers and dentin moisture during total-etch bonding. *Am J Dent*. 2010 Jun;23(3):137-41.
102. Banerjee A, Kellow S, Mannocci F, Cook RJ, Watson TF. An in vitro evaluation of microtensile bond strengths of two adhesive bonding agents to residual dentine after caries removal using three excavation techniques. *J Dent*. 2010 Jun;38(6):480-9.
103. Belli R, Guimaraes JC, Filho AM, Vieira LC. Post-etching cleaning and resin/ceramic bonding: microtensile bond strength and EDX analysis. *J Adh Dent*. 2010 Aug;12(4):295-303.
104. Breschi L, Martin P, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Tjaderhane L, et al. Use of a specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid layer. *Dent Mater*. 2010 Jun;26(6):571-8.

105. Breschi L, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, Tjaderhane L, et al. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: a 2-year in vitro study. *Dent Mater.* 2010 Apr;26(4):320-5.
106. Castellan CS, Santos-Filho PC, Soares PV, Soares CJ, Cardoso PE. Measuring bond strength between fiber post and root dentin: a comparison of different tests. *J Adh Dent.* 2010 Dec;12(6):477-85.
107. Cavalcanti AN, Mitsui FH, Lima AF, Mathias P, Marchi GM. Evaluation of dentin hardness and bond strength at different walls of class II preparations. *J Adh Dent.* 2010 Jun;12(3):183-8.
108. Cecchin D, Farina AP, Galafassi D, Barbizam JV, Corona SA, Carlini-Junior B. Influence of sodium hypochlorite and edta on the microtensile bond strength of a self-etching adhesive system. *Journal of Applied Oral Science.* 2010 Jul-Aug;18(4):385-9.
109. Chang YE, Shin DH. Effect of chlorhexidine application methods on microtensile bond strength to dentin in Class I cavities. *Op Dent.* 2010 Nov-Dec;35(6):618-23.
110. Chang SW, Cho BH, Lim RY, Kyung SH, Park DS, Oh TS, et al. Effects of blood contamination on microtensile bond strength to dentin of three self-etch adhesives. *Op Dent.* 2010 May-Jun;35(3):330-6.
111. do Amaral RC, Stanislawczuk R, Zander-Grande C, Gagler D, Reis A, Loguercio AD. Bond strength and quality of the hybrid layer of one-step self-etch adhesives applied with agitation on dentin. *Op Dent.* 2010 Mar-Apr;35(2):211-9.
112. El Zohairy AA, Saber MH, Abdalla AI, Feilzer AJ. Efficacy of microtensile versus microshear bond testing for evaluation of bond strength of dental adhesive systems to enamel. *Dent Mater.* 2010;26(9):848-54.
113. Gianini RJ, do Amaral FL, Florio FM, Basting RT. Microtensile bond strength of etch-and-rinse and self-etch adhesive systems to demineralized dentin after the use of a papain-based chemomechanical method. *Am J Dent.* 2010 Feb;23(1):23-8.
114. Hiraishi N, Yiu CK, King NM, Tay FR. Effect of chlorhexidine incorporation into a self-etching primer on dentine bond strength of a luting cement. *J Dent.* 2010 Jun;38(6):496-502.
115. HOSHIKA S, NAGANO F, TANAKA T, IKEDA T, WADA T, ASAKURA K, et al. Effect of application time of colloidal platinum nanoparticles on the microtensile bond strength to dentin. *Dent Mater J.* 2010 Nov 19;29(6):682-9.
116. Kunawarote S, Nakajima M, Shida K, Kitasako Y, Foxton RM, Tagami J. Effect of dentin pretreatment with mild acidic HOCl solution on microtensile bond strength and surface pH. *J Dent.* 2010 Mar;38(3):261-8.
117. Margvelashvili M, Goracci C, Beloica M, Papacchini F, Ferrari M. In vitro evaluation of bonding effectiveness to dentin of all-in-one adhesives. *J Dent.* 2010 Feb;38(2):106-12.
118. Marquezan M, Osorio R, Ciamponi AL, Toledano M. Resistance to degradation of bonded restorations to simulated caries-affected primary dentin. *Am J Dent.* 2010 Feb;23(1):47-52.
119. Osorio R, Aguilera FS, Otero PR, Romero M, Osorio E, Garcia-Godoy F, et al. Primary dentin etching time, bond strength and ultra-structure characterization of dentin surfaces. *J Dent.* 2010 Mar;38(3):222-31.
120. Osorio R, Osorio E, Aguilera FS, Tay FR, Pinto A, Toledano M. Influence of application parameters on bond strength of an "all in one" water-based self-etching primer/adhesive after 6 and 12 months of water aging. *Odontology.* 2010 Jul;98(2):117-25.

121. Pavan S, dos Santos PH, Berger S, Bedran-Russo AK. The effect of dentin pretreatment on the microtensile bond strength of self-adhesive resin cements. *J Prosthet Dent.* 2010 Oct;104(4):258-64.
122. Peerzada F, Yiu CK, Hiraishi N, Tay FR, King NM. Effect of surface preparation on bond strength of resin luting cements to dentin. *Op Dent.* 2010 Nov-Dec;35(6):624-33.
123. Ricci HA, Sanabe ME, Costa CA, Hebling J. Effect of chlorhexidine on bond strength of two-step etch-and-rinse adhesive systems to dentin of primary and permanent teeth. *Am J Dent.* 2010 Jun;23(3):128-32.
124. Sadek FT, Castellan CS, Braga RR, Mai S, Tjaderhane L, Pashley DH, et al. One-year stability of resin-dentin bonds created with a hydrophobic ethanol-wet bonding technique. *Dent Mater.* 2010 Apr;26(4):380-6.
125. Sarr M, Kane AW, Vreven J, Mine A, van Landuyt KL, Peumans M, et al. Microtensile bond strength and interfacial characterization of 11 contemporary adhesives bonded to bur-cut dentin. *Op Dent.* 2010 Jan-Feb;35(1):94-104.
126. Sarr M, Mine A, de Munck J, Cardoso M, Kane A, Vreven J, et al. Immediate bonding effectiveness of contemporary composite cements to dentin. *Clin Oral Invest.* 2010;14(5):569-77.
127. Sauro S, Toledano M, Aguilera FS, Mannocci F, Pashley DH, Tay FR, et al. Resin-dentin bonds to EDTA-treated vs. acid-etched dentin using ethanol wet-bonding. *Dent Mater.* 2010 Apr;26(4):368-79.
128. Soares CG, Carracho HG, Braun AP, Borges GA, Hirakata LM, Spohr AM. Evaluation of bond strength and internal adaptation between the dental cavity and adhesives applied in one and two layers. *Op Dent.* 2010 Jan-Feb;35(1):69-76.
129. Xie C, Han Y, Zhao XY, Wang ZY, He HM. Microtensile bond strength of one- and two-step self-etching adhesives on sclerotic dentin: the effects of thermocycling. *Op Dent.* 2010 Sep-Oct;35(5):547-55.
130. Zanchi CH, Lund RG, Perrone LR, Ribeiro GA, del Pino FA, Pinto MB, et al. Microtensile bond strength of two-step etch-and-rinse adhesive systems on sound and artificial caries-affected dentin. *Am J Dent.* 2010 Jun;23(3):152-6.
131. Franca FM, dos Santos AJ, Lovadino JR. Influence of air abrasion and long-term storage on the bond strength of self-etching adhesives to dentin. *Op Dent.* 2007 May-Jun;32(3):217-24.
132. Frankenberger R, Lohbauer U, Tay FR, Taschner M, Nikolaenko SA. The effect of different air-polishing powders on dentin bonding. *J Adh Dent.* 2007 Aug;9(4):381-9.
133. Hosaka K, Nakajima M, Monticelli F, Carrilho M, Yamauti M, Aksornmuang J, et al. Influence of hydrostatic pulpal pressure on the microtensile bond strength of all-in-one self-etching adhesives. *J Adh Dent.* 2007 Oct;9(5):437-42.
134. Ishikawa A, Shimada Y, Foxton RM, Tagami J. Micro-tensile and micro-shear bond strengths of current self-etch adhesives to enamel and dentin. *Am J Dent.* 2007 Jun;20(3):161-6.
135. Pangrisomboon B, Harnirattisai C, Nilsri K, Burrow MF. Microtensile bond strength of self-etching adhesive systems to differently prepared dentin. *Am J Dent.* 2007 Aug;20(4):259-62.
136. Sattabanasuk V, Vachiramon V, Qian F, Armstrong SR. Resin-dentin bond strength as related to different surface preparation methods. *J Dent.* 2007;35(6):467-75.
137. Waidyasekera PG, Nikaido T, Weerasinghe DD, Tagami J. Bonding of acid-etch and self-etch adhesives to human fluorosed dentine. *J Dent.* 2007 Dec;35(12):915-22.

138. Abdalla AI, Feilzer AJ. Four-year water degradation of a total-etch and two self-etching adhesives bonded to dentin. *J Dent.* 2008;36(8):611-7.
139. Bagis B, Turkarslan S, Tezvergil-Mutluay A, Uctasli S, Vallittu PK, Lassila LV. Effect of ultrasonic agitation on bond strength of self-etching adhesives to dentin. *J Adh Dent.* 2008 Dec;10(6):441-5.
140. Cardoso MV, de Munck J, Coutinho E, Ermis RB, van Landuyt K, de Carvalho RC, et al. Influence of Er,Cr:YSGG laser treatment on microtensile bond strength of adhesives to enamel. *Op Dent.* 2008 Jul-Aug;33(4):448-55.
141. Cardoso MV, Coutinho E, Ermis RB, Poitevin A, van Landuyt K, de Munck J, et al. Influence of dentin cavity surface finishing on micro-tensile bond strength of adhesives. *Dent Mater.* 2008;24(4):492-501.
142. De Goes MF, Giannini M, Di Hipolito V, Carrilho MR, Daronch M, Rueggeberg FA. Microtensile bond strength of adhesive systems to dentin with or without application of an intermediate flowable resin layer. *Braz Dent J.* 2008;19(1):51-6.
143. Ermis RB, de Munck J, Cardoso MV, Coutinho E, van Landuyt KL, Poitevin A, et al. Bond strength of self-etch adhesives to dentin prepared with three different diamond burs. *Dent Mater.* 2008;24(7):978-85.
144. Lima Gda S, Ogliari FA, da Silva EO, Ely C, Demarco FF, Carreno NL, et al. Influence of water concentration in an experimental self-etching primer on the bond strength to dentin. *J Adh Dent.* 2008 Jun;10(3):167-72.
145. Osorio R, Pisani-Proenca J, Erhardt M, Osorio E, Aguilera F, Tay F, et al. Resistance of ten contemporary adhesives to resin-dentine bond degradation. *J Dent.* 2008;36(2):163-9.
146. Piva E, Ogliari FA, Moraes RR, Cora F, Henn S, Correr-Sobrinho L. Papain-based gel for biochemical caries removal: influence on microtensile bond strength to dentin. *Braz Oral Res.* 2008 Oct-Dec;22(4):364-70.
147. Sadek FT, Calheiros FC, Cardoso PE, Kawano Y, Tay F, Ferrari M. Early and 24-hour bond strength and degree of conversion of etch-and-rinse and self-etch adhesives. *Am J Dent.* 2008 Feb;21(1):30-4.
148. Yildirim S, Tosun G, Koyuturk AE, Sener Y, Sengun A, Ozer F, et al. Microtensile and microshear bond strength of an antibacterial self-etching system to primary tooth dentin. *European Journal of Dentistry.* 2008 Jan;2(1):11-7.
149. Yiu CK, Hiraishi N, King NM, Tay FR. Effect of dentinal surface preparation on bond strength of self-etching adhesives. *J Adh Dent.* 2008 Jun;10(3):173-82.
150. Campos EA, Correr GM, Leonardi DP, Pizzatto E, Morais EC. Influence of chlorhexidine concentration on microtensile bond strength of contemporary adhesive systems. *Braz Oral Res.* 2009 Jul-Sep;23(3):340-5.
151. Garcia FCP, Almeida JCF, Osorio R, Carvalho RM, Toledano M. Influence of drying time and temperature on bond strength of contemporary adhesives to dentine. *J Dent.* 2009;37(4):315-20.
152. Iida Y, Nikaido T, Kitayama S, Takagaki T, Inoue G, Ikeda M, et al. Evaluation of dentin bonding performance and acid-base resistance of the interface of two-step self-etching adhesive systems. *Dent Mater J.* 2009 Jul;28(4):493-500.